

SÉRIE A, N° 774

N° D'ORDRE :

1557

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

SUZANNE LEDEBT

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES
VENINS. ACTION DES VENINS DE SERPENTS ET DES POISONS
QU'ILS ENGENDRENT SUR QUELQUES VERTÉBRÉS AQUATIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

25

Juin 1914 devant la Commission d'examen

JURY :

Président : MM. DASTRE

Examineurs { MATRUCHOT
GENTIL

LAVAL

L. BARNÉOUD & C^{ie}, IMPRIMEURS

—
1914

SÉRIE A, N° 774

N° D'ORDRE :

1557

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

SUZANNE LEDEBT



1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES
VENINS. ACTION DES VENINS DE SERPENTS ET DES POISONS
QU'ILS ENGENDRENT SUR QUELQUES VERTÉBRÉS AQUATIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

Juin 1914 devant la Commission d'examen

JURY :

Président : MM. DASTRE

Examineurs { MATRUCHOT
GENTIL

LAVAL

L. BARNÉOUD & C^{ie}, IMPRIMEURS

1914

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... P. APPELL, *Profess.* Mécanique analytique et mécan. céleste

Doyen honoraire G. DARBOUX. — Géométrie supérieure

Profess. honoraires. { Ch WOLF.
J. RIBAN.

	LIPPMANN	Physique
	BOUTY.....	Physique.
	BOUSSINESQ	Phys. mathém. et calcul des probabilités.
	PICARD	Analyse supér. et algèbre supérieure
	Y. DELAGE	Zoologie, anatomie, physiologie compar.
	G. BONNIER	Botanique.
	DASTRE	Physiologie
	KOENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.....	Géographie physique.
	GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	JANET.....	Physique —
	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie.
	PAINLEVÉ.....	Mécanique rationnelle.
<i>Professeurs</i>	HAUG	Géologie.
	HOUSSAY.....	Zoologie.
	H. LE CHATELIER.	Chimie.
	G. BERTRAND.. .	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale.
	CAULLERY	Zoologie (Évolution des êtres organisés)
	C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie
	EMILE BOREL	Théorie des fonctions.
	MARCHIS.....	Aviation.
	JEAN PERRIN.....	Chimie physique.
	G. PRUVOT.....	Zoologie, anatomie, physiol. comparée
	MATRUCHOT.....	Botanique.
	ABRAHAM.....	Physique.
	CARTAN.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	Cl. GUICHARD.....	Mathématiques générales.
	MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
	N.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	N.....	Histologie.

	PUISEUX	Mécanique et Astronomie.
	LEDUC.....	Physique.
	MICHEL	Minéralogie.
	HEROUARD.....	Zoologie.
<i>Professeurs-adjoints.</i> {	LÉON BERTRAND...	Géologie.
	RÉMY PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
	COTTON	Physique.
	LESPIEAU	Chimie.
	GENTIL.....	Pétrographie.
	SAGNAC.....	Physique (Enseignement P. C. N.).
	PEREZ.....	Zoologie (Évolution des êtres organisés).

Secrétaire D. TOMBECK.

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DELEZENNE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

AVANT-PROPOS

Depuis plusieurs années, nous poursuivons, en collaboration avec notre maître, M. le professeur DELEZENNE, des recherches expérimentales sur les venins. Ces recherches ont abouti à une série de données nouvelles dont quelques-unes ne sont pas, semble-t-il, sans intérêt pour la biologie générale. Nous avons établi, en particulier, que les venins des serpents peuvent, par simple action catalytique, engendrer, aux dépens de certains matériaux du sérum sanguin ou du vitellus de l'œuf, des poisons extraordinairement nocifs pour les éléments cellulaires isolés, et d'une grande toxicité pour les mammifères.

Nous nous sommes demandé s'il n'y aurait pas quelque intérêt à tenter de mettre en évidence l'action de ces poisons, par une méthode d'étude très simple et toute différente de celles qui avaient été employées jusque là.

Les travaux d'OVERTON, sur l'action des anesthésiques chez les têtards, ceux d'HÉDON, sur les effets des glucosides chez les poissons, et enfin les essais déjà tentés par BANG et OVERTON, avec les venins eux-mêmes, nous ont conduit à utiliser les vertébrés aquatiques, pour étudier comparativement l'action qu'exercent, chez ces animaux, les venins et les poisons auxquels ils donnent naissance, quand les uns et les autres sont simplement ajoutés au milieu extérieur.

Cette méthode, qui est d'une application facile, n'aurait pu cependant nous fournir des renseignements précis, si nous n'avions pas eu soin de déterminer, au préalable, les conditions de milieu qui convenaient à la fois à la vie des vertébrés aqua-

tiques, auxquels nous nous sommes adressé, et à l'essai des substances que nous voulions expérimenter.

Cette étude préliminaire, qui constitue, en quelque sorte, l'introduction de notre travail, nous conduit à aborder le compte rendu d'expériences personnelles, sur la toxicité des venins pour les têtards ou les poissons, quand ces animaux sont maintenus dans des milieux extérieurs de composition différente. A cet égard, nous insistons, tout particulièrement, sur l'action antagoniste de certains sels.

Après avoir montré qu'il est également facile de mettre en évidence, par la méthode d'étude employée, l'action neutralisante spécifique des sérums antivenimeux, nous terminons cette première partie de notre travail, par un rapide aperçu des effets de la cholestérine sur quelques venins.

La seconde partie est spécialement consacrée à l'étude des poisons engendrés par les venins, aux dépens du sérum et du vitellus de l'œuf.

Après avoir rappelé, dans un exposé historique et critique, les données essentielles qui se dégagent des travaux précédemment publiés sur cette question, et auxquels nous avons eu l'avantage de pouvoir participer, nous montrons comment on peut manifester, chez les vertébrés aquatiques, les effets nocifs du sérum ou du vitellus d'œuf soumis à l'action des venins. L'un des produits qui dérivent de cette action, le seul qui soit aujourd'hui caractérisé chimiquement, la lysocithine (C. DELEZENNE et E. FOURNEAU), se montre tout particulièrement toxique pour les vertébrés aquatiques. Son étude fait l'objet d'un chapitre spécial, auquel se rattachent quelques expériences sur le pouvoir antagoniste de la cholestérine, et un bref aperçu comparatif de l'action de la lysocithine et des glucosides, du groupe de la saponine, sur les animaux aquatiques.

Enfin un dernier chapitre est consacré à l'étude, toute nouvelle, de l'action antidiastatique des sérums de serpents sur les venins correspondants. En raison de ses applications à la biologie générale, cette étude eût peut-être mérité que nous nous y arrétions davantage ; les données essentielles que nous

exposons, suffiront, tout au moins, à montrer l'intérêt qui s'attache à cette question.

La plupart des venins, que nous avons utilisés, avaient été mis à la disposition de M. DELEZENNE, par M. CALMETTE. Quelques-uns ont été recueillis, ainsi que les sérums correspondants, sur des serpents qui avaient été expédiés vivants, au laboratoire de Physiologie de l'Institut Pasteur par les soins de MM. CALMETTE, NICOLLE (de Tunis) et CH. SEURAT (d'Alger), auxquels nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements. MM. A. PETTIT et CHATTON qui ont facilité notre tâche, en nous aidant à nous procurer les matériaux dont nous avions besoin, ont également droit à notre reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Sur les conditions de milieu qui permettent la vie des animaux aquatiques

APERÇU HISTORIQUE ET CRITIQUE

L'étude de l'action qu'exercent les venins ajoutés au milieu extérieur, sur les vertébrés aquatiques, nous met en présence d'un mode d'intoxication particulier et très différent de ceux qui sont observés communément chez les autres vertébrés.

Alors que, chez ces derniers, le venin étudié est introduit directement dans l'organisme, par injection sous la peau, dans le péritoine ou dans les veines, chez les animaux aquatiques nous avons réalisé l'intoxication, en introduisant le venin dans le milieu extérieur, où ils sont maintenus. Si les expériences sont par elles-mêmes très simples, les problèmes qu'elles posent sont assurément plus complexes que ceux que soulève l'étude de l'action des venins chez les mammifères par exemple.

Il y a lieu d'envisager, en effet, non seulement la série des phénomènes qui caractérisent la présence du poison dans l'organisme, mais encore tous ceux qui interviennent pour faciliter ou empêcher son absorption, soit au niveau de l'appareil branchial, soit au niveau du tégument. Or, des variations relativement minimes de la composition du milieu extérieur, peuvent avoir, à cet égard, une importance considérable, soit qu'elles modifient les conditions des échanges, soit qu'elles altèrent la

barrière épithéliale, soit qu'elles agissent directement dans le milieu, sur le poison, pour le neutraliser ou le détruire.

Les substances minérales, et en particulier certains sels, peuvent, comme nous le verrons plus loin, exercer, à ce point de vue, une action considérable.

Il était donc essentiel, pour préciser le rôle que jouent ces substances, lorsqu'elles sont associées au venin, de déterminer exactement, au préalable, comment elles se comportent isolément ou en association, mais indépendamment de la présence du venin.

Pour réaliser cette étude préliminaire, il était nécessaire de partir du milieu le plus simple qui pouvait convenir à la vie des êtres envisagés, milieu auquel on pouvait ajouter, à des concentrations diverses, et dans des conditions expérimentales variées, des substances propres à constituer d'autres milieux, parfaitement compatibles également avec la vie des êtres envisagés.

Le milieu simple, le milieu idéal en quelque sorte, dont on devait s'efforcer de partir, était évidemment l'eau distillée. Or ce milieu, qui est très nettement toxique, pour la plupart des vertébrés marins, peut convenir, comme nous le verrons plus loin, à un assez grand nombre de poissons d'eau douce et aux amphibiens à la période branchiale.

Quelques auteurs l'avaient expérimenté avant nous, en particulier sur les têtards, mais il était essentiel, pour la conduite de nos recherches, que nous fussions fixé personnellement, tout d'abord, sur les conditions, dans lesquelles il fallait se placer, pour que ce milieu primitif fut parfaitement utilisable pour nos expériences. Ce sont précisément les données personnelles que nous avons recueillies sur cette question, que nous exposerons dans le chapitre suivant. Mais avant de rapporter nos résultats, il est utile que nous résumions sommairement l'ensemble des acquisitions que nous possédons actuellement sur cette intéressante question.

Des observations, déjà anciennes, dues à NAEGELI (1) avaient

1. NAEGELI. Ueber oligodynamische erscheinungen un lebenden zellen. *Nouveau mémoire de la Société helvétique d'histoire naturelle*. t. XXIII, 1, 1893.

montré l'extrême sensibilité de certaines algues, les *Spirogyres*, à l'eau distillée.

S'efforçant de déterminer la cause de la mort observée, ce savant arriva finalement à cette conclusion, que la mort était due aux traces infinitésimales de cuivre dissoutes par l'eau, pendant son passage à travers les alambics et les serpentins de cuivre des appareils à distillation.

NAEGELI institua un grand nombre d'expériences (en utilisant des pièces de monnaie), pour fixer approximativement la quantité de cuivre nécessaire, pour amener la mort des *spirogyres* et il vit qu'il suffisait, pour cela, que l'eau distillée contint une à deux parties de cuivre pour un milliard de parties d'eau.

Après avoir rapporté hypothétiquement cette action nocive du cuivre à une nouvelle force « Isigitat », il admit plus tard qu'il s'agissait d'une véritable action toxique de doses infimes de ce métal à l'état dissout, et il donna à ces actions le nom d'oligodynamiques.

Il observa d'ailleurs, que d'autres métaux, argent, plomb, étain, fer, mercure, présentent, à l'état de traces, les mêmes propriétés oligodynamiques que le cuivre.

Cette eau distillée, qui est impropre à la vie, perd peu à peu sa toxicité, si on l'abandonne dans des vases en verre ou en platine, par le fait de la précipitation et du dépôt des substances nocives sur les parois.

D'autre part, par redistillation sur verre, on obtient, après avoir perdu les premières fractions, une eau d'une pureté suffisante pour assurer la vie des *spirogyres*.

Les observations de NAEGELI avaient porté exclusivement sur des organismes végétaux. RINGER et PHAER (1) en 1895, étudiant l'action de l'eau distillée sur les têtards et sur des annélides d'eau douce, constatent que ces animaux succombent très rapidement, dans ce milieu, auquel ils attribuent une toxicité propre qu'ils font disparaître ou atténuent par l'addition de certains sels.

LOCKE (2), qui reprend ces expériences la même année, montre

1. RINGER et PHAER. *Journal of Physiology*, 1895, t. XVI, pp. 423-432.

2. LOCKE, *Journal of Physiology*, 1895, t. XVIII, pp. 319-331.

que les résultats, observés par les auteurs précédents, doivent être attribués aux impuretés et spécialement au cuivre que renfermait l'eau distillée qu'ils ont employée. Rappelant les faits déjà signalés par NÆGELI, il établit que l'eau soigneusement redistillée sur verre convient parfaitement à la vie des têtards et des annélides d'eau douce.

Ces résultats de LOCKE furent d'ailleurs pleinement confirmés, quelques années plus tard, par RINGER (1) lui-même, par ANNE MOORE (2), etc.

En 1904, E.-P. LYON (3), par ses études sur les œufs et les larves d'*Arbacea*, arrive à cette conclusion, que la toxicité de l'eau distillée est due à une substance volatile, vraisemblablement l'ammoniaque.

LIVINGSTONE (4) (1907) confirme les résultats de NÆGELI et préconise une méthode nouvelle pour retenir les principes volatils, auxquels il attribue une certaine part de la toxicité.

NÆGELI et après lui BREAZEAL (5) (1906) avaient signalé l'avantage d'ajouter certains corps solides insolubles, comme le graphite, la poudre de charbon, afin de rendre l'eau physiologiquement meilleure. L'action de ces substances inertes s'expliquait par la large surface qu'elles présentent et qui multiplie considérablement leur capacité de fixer les substances toxiques. LIVINGSTONE agit, à diverses reprises, de l'eau distillée, de provenance variée, avec du noir animal, de l'hydrate ferrique, de l'hydrate d'alumine, du quartz, etc. Il obtient ainsi une eau distillée, débarrassée de ses principes toxiques, volatils et non volatils. Cette eau se montre souvent plus favorable au développement des larves que de l'eau d'une conductibilité plus basse, préparée par distillation en présence de certains réactifs. On pourrait supposer que l'amélioration obtenue est due à l'ad-

1. RINGER. *Journal of Physiology*, 1897, t. XXII, *Proceedings*, p. 14.

2. ANNE MOORE. *American Journal of Physiology*, 1900, t. IV, p. 386.

3. E.-P. LYON. A Biological examination of distilled Water. *Biological Bulletin*, mars 1904, p. 198.

4. LIVINGSTONE. *Further studies on the Properties of improductive Soil*. Bulletin n° 36, 1907. Bureau of Soils. Washington..

5. BREAZEAL. *Botanical Gazette*, 1906, pp. 54-63.

dition de substances nouvelles, mais LIVINGSTONE montre qu'il faut bien l'attribuer à la suppression de principes toxiques. Il établit que, pratiquement, la meilleure eau distillée est obtenue par double distillation, la première ayant lieu en présence de noir animal; la distillation enlevant les principes toxiques non volatils, et la poudre de charbon dépouillant l'eau des principes volatils.

Ces données, qui nous montrent que l'eau distillée, soigneusement redistillée, convient à la vie de certains organismes, ne sont valables, disons-le immédiatement, que s'il s'agit d'êtres qui, au point de vue osmotique sont, dans une large mesure tout au moins, indépendants du milieu extérieur.

Sans parler pour l'instant des organismes marins qui, habitués à vivre dans un milieu de salure extrêmement élevé, ne peuvent — sauf certaines espèces particulièrement adaptées, comme les poissons migrateurs — être transportés, sans que la mort s'en suive rapidement, de l'eau de mer dans l'eau distillée ou même dans l'eau douce, il est bon nombre d'organismes d'eau douce qui sont incapables de vivre dans des milieux totalement privés de sels.

BULLOT (1) a montré que de l'eau, distillée plusieurs fois avec le plus grand soin, est toxique pour les *Gammarus* d'eau douce, que la distillation ait eu lieu dans du verre d'Iéna, du platine ou du quartz. Au contraire si l'on ajoute à cette eau distillée une trace de NaCl, de manière à obtenir une concentration égale à 0,00008 N, ou un peu supérieure, les gammarus restent vivants aussi longtemps que dans l'eau douce.

Il y a lieu de penser avec LOEB que, dans ce cas, la petite quantité de sel, qui est ajoutée au milieu extérieur, suffit à maintenir l'imperméabilité de la membrane, vis-à-vis de l'eau, et à empêcher la pénétration de cette dernière, en trop grande quantité dans les humeurs.

Pour certains êtres, la nécessité d'une petite quantité d'électrolytes dans le milieu extérieur apparaît plus nettement encore.

1. BULLOT. *University of California Publication*, 1904, pp. 199-207.

J.-F. ABBOT et LEIGH-RICHARDS (1) ont observé que *Anguillula aceti* vit plus longtemps dans l'eau distillée ordinaire (même distillée sur cuivre) que dans l'eau redistillée sur verre d'Inna et essayée en vase d'Inna. La même eau se montre, d'ailleurs, moins nocive lorsqu'elle est employée en verre ordinaire, preuve que la petite quantité d'électrolytes cédée par ce dernier, qui, on le sait, se dissout beaucoup plus aisément que le verre d'Inna, suffit à assurer une certaine protection vis-à-vis des effets nocifs de l'eau distillée tout à fait pure.

Certains êtres, qui meurent rapidement, lorsqu'on les transporte d'emblée de leur milieu habituel dans l'eau distillée, peuvent, d'ailleurs, s'adapter, si on les habitue graduellement à des milieux de moins en moins riches en sels.

FRANCK DANIEL (2) a observé en particulier que des paramécies, qui succombent sans retard à un changement brusque de milieu, peuvent vivre pendant des jours dans l'eau distillée, sans nourriture, quand on les accoutume progressivement à des milieux de plus en plus pauvres en électrolytes.

Cette capacité que possèdent certains êtres, de s'adapter par un processus lent à des conditions nouvelles, est d'ailleurs un des problèmes les plus intéressants de la biologie ; les êtres unicellulaires, et les microbes en particulier, en fournissent de nombreux exemples.

Si nous ne considérons maintenant que les animaux aquatiques nettement différenciés et plus élevés en organisation, les seuls qui nous intéressent dans ce travail, nous savons que les relations qu'ils affectent avec les milieux qui les environnent, sont surtout réglées par la plus ou moins grande perméabilité de leurs membranes limitantes et par la sensibilité des éléments cellulaires, qui constituent ces membranes, aux agents physiques ou chimiques capables d'en altérer ou d'en modifier la structure et la composition.

1. J.-F. ABBOT et E. LEIGH-RICHARDS. L'effet mortel de l'eau distillée sur *Anguillula aceti*. *Biological Bulletin*, 1911, p. 122.

2. FRANCK DANIEL. The adjustment of *Paramecium* to distilled water and its bearing on the Problem of the necessary inorganic Salt content. *American Journal of Physiology*, t. XXIII, 1908-1909, p. 48.

On sait, depuis les recherches de FREDERICQ (1), BOTTAZZI (2), QUINTON (3), WALTER GARREY (4), etc., que chez les invertébrés marins, les membranes sont entièrement perméables à l'eau et aux sels, puisque chez ces animaux la pression osmotique et la composition saline du milieu extérieur sont sensiblement les mêmes que celles de l'eau de mer. Ces êtres subissent, passivement pour ainsi dire, la tension du milieu qui les environne et, dans de certaines limites, s'accommodent de ses variations, pourvu que n'interviennent pas d'éléments minéraux particulièrement toxiques.

Chez les vertébrés aquatiques (poissons ou amphibiens), le milieu intérieur tend au contraire vers la fixité, et l'animal se montre de plus en plus indépendant du milieu extérieur où il vit.

Parmi les poissons, les Sélaciens représentent, en quelque sorte, le terme de transition entre les animaux, que l'on pourrait appeler avec HÖBER, homéo-osmotiques, et les animaux poïkilo-osmotiques, la tension osmotique des poissons cartilagineux étant encore très voisine de celle de l'eau de mer qui est leur habitat naturel ($\Delta = 2^{\circ}26$ à $2^{\circ}44$, le Δ de l'eau de mer étant en moyenne $2^{\circ}3$). Il est à remarquer, toutefois, que, chez eux, les sels n'interviennent plus que pour une part dans l'établissement de la pression osmotique et que l'équilibre est maintenu normalement par une quantité importante, mais variable d'urée (BOTTAZZI). Transportés dans l'eau ordinaire, les Sélaciens succombent d'ailleurs rapidement, en présentant des signes d'asphyxie et l'on constate que la mort coïncide avec un abaissement très marqué de la tension osmotique sanguine.

Les Téléostéens marins, plus parfaits et plus élevés en organisation, se sont créés, par contre, une tension osmotique relativement fixe et très inférieure à celle de l'eau de mer. La perméabilité de leurs membranes, infiniment réduite, assure, dans

1. FREDERICQ. *Bulletin Acad. Roy. de Belgique*, 1878, p. 70, 1882, p. 209.

2. BOTTAZZI. *Archives italiennes de Biologie*, t. XXVIII, 1897, p. 61.

3. QUINTON. *C. R. Acad. Sciences*, t. CXXXI, 1900, p. 905.

4. WALTER GARREY. *Biological Bulletin*, 1905, p. 237.

les conditions habituelles, le maintien de la concentration saline et de la tension osmotique internes.

La plupart d'entre eux ne peuvent subir, toutefois, de changements réellement appréciables de milieu, sans grand dommage. C'est ainsi que le passage de l'eau de mer à l'eau douce, même lorsqu'il est effectué graduellement, se montre, d'ordinaire, très rapidement mortel.

Il est cependant un groupe de poissons osseux, les Téléostéens migrateurs, qui sont naturellement adaptés à passer de l'eau de mer à l'eau douce et vice versa : les saumons, qui, à l'époque de la maturité sexuelle, quittent la mer et remontent les cours d'eau, peuvent supporter normalement des milieux de tension osmotique extrêmement variable. Cette indifférence aux variations du milieu extérieur, tient-elle à une imperméabilité plus parfaite des membranes chez ces animaux ou, comme on l'a encore supposé, à des mécanismes régulateurs de la pression osmotique interne, en relation avec le développement des glandes sexuelles ? Il est actuellement difficile de donner une réponse satisfaisante à cette question.

Certains poissons marins, hôtes des grands estuaires, se montrent, d'ailleurs, expérimentalement capables de vivre dans des milieux dont la pression osmotique s'éloigne considérablement de la pression de leur habitat naturel.

Tout le monde connaît depuis les recherches de LOEB (1), le cas du *Fundulus heteroclitus*, petit poisson osseux de l'océan Pacifique que l'on peut faire séjourner indifféremment, et sans aucun dommage dans l'eau douce, voire même dans l'eau distillée ou dans l'eau de mer dont la concentration a été doublée. Mais, remarque importante, le *Fundulus* ne tarde pas à succomber s'il est transporté dans une solution de NaCl, de tension osmotique égale à celle de l'eau de mer. NaCl, qui se montre très toxique à cette concentration, est, par contre, aisément supporté, si on lui ajoute une petite quantité de CaCl_2 et de KCl.

1. J. LOEB. *La dynamique des phénomènes de la vie*. Edition française, Alcan, Paris 1908.

Il résulte de ces expériences, que c'est bien moins les variations de la tension osmotique elle-même, que les variations de composition du milieu extérieur, qui sont dangereuses pour l'animal aquatique. C'est ce qu'ont d'ailleurs surabondamment démontré les nombreuses et si suggestives expériences de LOEB et de ses élèves.

Les *Gammarus* de la baie de San-Francisco qui meurent en une demi-heure, lorsqu'on les transporte de l'eau de mer dans l'eau distillée (1), meurent aussi vite ou même plus vite, si on les met dans une solution de saccharose de même pression osmotique que celle de l'eau de mer, et il en est encore de même si on les transporte dans une solution de NaCl (ou d'un sel quelconque) de même pression osmotique que l'eau de mer. Ils meurent également dans une solution contenant tous les éléments de l'eau de mer, sauf NaCl, et cela encore plus vite que dans l'eau distillée ou dans NaCl pur. Au contraire, dans une solution contenant NaCl, KCl et CaCl_2 , dans le même rapport que dans l'eau de mer, ces animaux peuvent vivre plusieurs jours.

Le manque de certains sels, contenus normalement dans l'eau de mer, peut donc être mortel pour les animaux marins, indépendamment de toute variation de pression osmotique et, par conséquent, de pénétration d'eau dans les tissus.

Les animaux d'eau douce, habitués à vivre dans des milieux déjà très faiblement minéralisés, s'accommodent aisément, pour la plupart, de milieux beaucoup moins riches en sels. Les poissons osseux et les amphibiens à la période branchiale supportent parfaitement, comme nous le verrons plus loin, l'eau distillée très pure. Leurs membranes s'opposent donc à la pénétration de l'eau et à la sortie des sels, au moins en quantité appréciable. Si le milieu extérieur présente par contre une salure relativement élevée, ces animaux ne tardent pas à succomber. Presque tous les poissons d'eau douce meurent, en quelques instants, lorsqu'ils sont transportés dans l'eau de mer et bon nombre d'entre eux supportent difficilement l'eau de mer ramenée, par

addition d'eau distillée, à l'isotonie, c'est-à-dire à une pression osmotique égale à celle de leurs propres humeurs.

Ici encore, la nature même des sels qui constituent le milieu, et les rapports qu'ils affectent les uns avec les autres, jouent un rôle beaucoup plus important que la pression osmotique elle-même.

Les solutions salines simples, à égalité de tension osmotique, se comportent, d'ailleurs, très différemment sur les animaux d'eau douce, suivant la nature du sel utilisé. W. OSTWALD (1) a constaté, en opérant sur les *Gammarus* d'eau douce, qu'il existait pour chaque sel une concentration critique à partir de laquelle la mort se produit très brusquement. Or, cette concentration peut, suivant le sel considéré, correspondre à une pression supérieure, inférieure ou égale à la pression osmotique de l'animal. Comment expliquer ces résultats ? W. OSTWALD et d'autres auteurs avec lui, ont admis que la toxicité devait être rapportée, non à la variation de la tension osmotique elle-même, ce qui est évident, mais à des modifications de perméabilité des membranes, modifications auxquelles serait lié un trouble profond dans les échanges avec le milieu extérieur. En fait, l'expérience a montré que des altérations fort peu étendues, du tégument ou de l'épithélium branchial, pouvaient modifier considérablement les rapports des animaux aquatiques avec le milieu extérieur. Le *Fundulus heteroclitus*, qui peut vivre indifféremment, ainsi que nous l'avons rappelé plus haut, dans l'eau distillée ou dans l'eau de mer dont la concentration a été doublée, meurt en moins de 24 heures, dans l'un et l'autre milieu, si l'on a dénudé, au préalable, son tégument d'écailles sur 1 centimètre carré. Il meurt, dans le même temps, dans l'eau de mer, son habitat naturel, mais il résiste si on le transporte dans l'eau de mer diluée de moitié, c'est-à-dire dans un milieu dont la tension osmotique est rendue sensiblement égale à celle de ses humeurs. Cette expérience montre quelle importance il y a lieu d'attribuer à l'état des membranes dans

1. W. OSTWALD *Pfluger Archiv*, t. CVI, 1905, p. 568.

l'étude des rapports des animaux aquatiques avec le milieu qui les entoure.

En fait, c'est bien moins le tégument, dont la vulnérabilité n'est que très relative, que la membrane branchiale, infiniment plus sensible, qui se modifie sous l'influence des agents externes. Or, c'est précisément au niveau des branchies qu'ont lieu les échanges les plus importants entre l'être aquatique et le milieu dans lequel il est plongé. Non seulement les altérations de la membrane branchiale troublent, plus ou moins profondément, la fonction respiratoire, mais elles peuvent modifier, à un haut degré, l'équilibre salin des humeurs et permettre la pénétration de substances toxiques pour lesquelles l'épithélium altéré ne constitue plus une barrière suffisante.

A cet égard, l'étude des poisons tels que les venins, qui, outre leur action toxique générale, sont capables de léser directement les éléments cellulaires, avec lesquels ils sont en contact, présente chez les êtres aquatiques un intérêt tout particulier.

CHAPITRE II

Action de l'eau distillée, de l'eau redistillée et de diverses solutions salines, sur quelques vertébrés d'eau douce.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Notre étude a porté exclusivement sur des vertébrés aquatiques d'eau douce, poissons et larves de batraciens. Les poissons furent empruntés à trois espèces : deux d'eau courante, le Vairon (*Phoxinus phoxinus*) et le Goujon (*Gobio fluviatilis*), une d'eau stagnante, la Tanche (*Tinca vulgaris*). Ces poissons étaient du même âge (1 an environ), et sensiblement de même taille et de même poids, les individus des trois espèces pesant en moyenne 1 gr. 5 à 2 gr. 5. Tous nous avaient été fournis par un pisciculteur parisien qui put mettre à notre disposition plusieurs centaines d'individus de chaque espèce. Les larves de batraciens étaient des têtards de *Rana temporaria*, recueillis aux environs de Paris (bois de Meudon).

Tous les essais sur les poissons furent faits en portant individuellement ces animaux, au sortir de l'eau courante, dans de petits cristallisoirs d'une contenance de 250 cc. environ, où l'on avait introduit au préalable, les différents milieux dont on voulait faire l'étude. Chaque cristallisoir, renfermant uniformément 150 cc. de liquide, était aussitôt après l'introduction du poisson, recouvert d'une tarlatane qui, tout en empêchant la fuite de l'animal, protégeait dans une certaine mesure le milieu contre la chute des poussières. Suivant le cas, le milieu

était renouvelé toutes les 24 ou 48 heures, ou conservé tel quel jusqu'à la fin de l'expérience.

Les têtards étaient traités de la même façon, mais en raison de leur poids plus faible, ils n'étaient mis en présence que de 40 ou 50 cc. de liquide.

I. — ACTION DE L'EAU DISTILLÉE ORDINAIRE ET DE L'EAU REDISTILLÉE

L'expérience nous montra tout d'abord que si ces animaux peuvent vivre, pendant un temps très long, dans les cristallisoirs renfermant de l'eau de conduite — sans nourriture et sans qu'aucune précaution particulière fût prise pour aérer l'eau —, ils meurent très rapidement dans l'eau distillée ordinaire.

L'eau distillée ordinaire, que nous avons employée, est l'eau qui est fournie, aux différents laboratoires, par le service général de l'Institut Pasteur. Elle est obtenue par la distillation de l'eau de source dans un alambic en cuivre. Le serpentín de l'appareil et le réservoir où s'accumule l'eau qui s'est condensée, sont également en cuivre. Suivant les besoins de la consommation, l'eau séjourne plus ou moins longtemps dans le réservoir, et reste, par conséquent, des temps variables en contact avec le cuivre. C'est certainement à ce fait qu'il faut attribuer, pour la plus grande part tout au moins, les variations de toxicité que nous avons pu observer d'une expérience à l'autre.

Si, dans tous les cas, l'eau distillée ordinaire a tué les poissons ou les têtards dans un délai qui n'excédait pas 12 heures, le terme le plus souvent observé était 5 à 6 heures et il nous est arrivé quelquefois, avec les espèces particulièrement sensibles, telles que le vairon, d'obtenir la mort en moins d'une heure.

Quel qu'ait été, d'ailleurs, le temps de survie des animaux, les phénomènes observés ont toujours été les mêmes. Les poissons où les têtards, dont les mouvements ne tardent pas à se ralentir, deviennent, à un moment donné, tout à fait immobiles, et présentent une desquamation plus ou moins intense du tégument.

A l'immobilité, fait suite une véritable paralysie qui atteint, en dernier lieu, chez les poissons, les muscles des opercules ; puis la respiration s'arrête, le cœur continuant à battre parfois pendant un temps assez long. A ce moment les animaux sont toujours très fortement desquamés et l'eau renferme, en plus ou moins grande abondance, des détritux épithéliaux.

Soumise à la redistillation, dans un appareil en verre, la même eau ne présente plus la moindre action nocive et convient tout aussi bien à la vie des poissons et des têtards que l'eau courante. Le même résultat est d'ailleurs obtenu en distillant d'emblée sur verre, l'eau de conduite. La seule précaution à employer, dans l'un et l'autre cas, est de perdre le premier quart qui passe à la distillation et d'arrêter celle-ci quand les trois quarts de l'eau, primitivement introduite dans le ballon, ont été évaporés.

Dans la pratique, nous avons presque exclusivement utilisé l'eau distillée ordinaire, redistillée en ballon de verre d'léna auquel était adapté un réfrigérant en argent. Cette eau, recueillie, après condensation, dans un récipient également en verre d'léna, est celle que l'on emploie couramment, au laboratoire de Physiologie de l'Institut Pasteur, pour les recherches sur les diastases. La conductibilité de cette eau mesurée à plusieurs reprises s'est montrée en moyenne égale à 10^{-6} .

Introduits dans l'eau redistillée ainsi obtenue, les vairons, les goujons ou les tanches y vivent, pour ainsi dire, indéfiniment puisque ces poissons peuvent y être conservés, sans nourriture, pendant plusieurs semaines. S'il arrive exceptionnellement qu'un animal succombe, la comparaison du pourcentage des morts avec celui que fournissent les poissons conservés, dans les mêmes conditions, en eau de conduite, montre que la proportion serait même plutôt un peu plus élevée pour l'eau de conduite que pour l'eau redistillée.

La différence de toxicité entre l'eau distillée ordinaire et l'eau redistillée sur verre, apparait de la façon la plus nette dans le tableau suivant, dont les chiffres correspondent à des expériences, qui représentent la moyenne des résultats observés.

TABEAU I

Espèce animale	Durée de la survie		Observations
	Eau distillée ordinaire	Eau redistillée	
Vairon	1 heure 45	Encore vivants après 25 jours	L'eau redistillée est changée toutes les 48 heures.
Id.	3 heures 20		
Id.	3 heures 45		
Id.	2 heures 15		
Goujon	1 heure 20	Vivants au bout d'un mois	L'eau redistillée est changée tous les jours au début et ensuite toutes les 48 heures.
Id.	3 heures 50		
Tanche	4 heures 1/4	Vivants au bout d'un mois	
Id.	5 heures		
Têtard	8 heures	Vivants après 15 jours	
Id.	6 heures 1/2		

Que la toxicité de l'eau distillée ordinaire, que nous avons utilisée, soit due aux traces de cuivre qu'elle renferme, cela ne peut évidemment faire de doute. L'eau distillée sur verre, qui est totalement dépourvue de nocivité, devient toxique lorsqu'on la fait séjourner dans un récipient en cuivre, ou qu'on y plonge, pendant quelque temps, une lame ou un fil de cuivre. D'autre part, l'eau distillée sur cuivre perd sa nocivité, lorsqu'on lui ajoute des poudres inertes (charbon, graphite, etc.), ou des colloïdes (hydrates de fer, d'alumine, etc.), capables de fixer ou d'adsorber le cuivre, qui, très vraisemblablement, se trouve lui-même dans l'eau, à l'état d'hydrate, et sous une forme voisine de l'état colloïdal.

Nous avons observé que l'addition d'une certaine quantité d'eau de conduite à l'eau distillée sur cuivre, diminue notablement, et dans certains cas supprime complètement, la toxicité

de cette dernière. Cette action protectrice est tout particulièrement marquée lorsqu'on s'adresse aux têtards.

Le tableau suivant en fournit un exemple des plus nets.

TABLEAU II. — TÊTARDS

Eau distillée	20 cc.	19 cc.	18 cc.	17 cc.	16 cc.
Eau de conduite		1 cc.	2 cc.	3 cc.	4 cc.
Durée de la survie	4 h. 1/2	5 h. 1/2	20 h.	vivant après 24 heures	vivant après 24 heures

On voit qu'il suffit d'ajouter à l'eau distillée sur cuivre, une faible quantité d'eau de conduite, pour supprimer ou réduire considérablement sa toxicité primitive. Il s'agit bien d'une action propre à l'eau de conduite, car on n'obtient pas le même résultat, en ajoutant à l'eau distillée ordinaire, soit des quantités équivalentes d'eau redistillée, soit des solutions salines diverses. NaCl ou CaCl_2 , par exemple, ajoutés à l'eau distillée ordinaire, même à une concentration notablement plus élevée que la concentration saline de l'eau de conduite, nous ont toujours donné des résultats négatifs. Il est vraisemblable que l'eau de conduite doit ses propriétés, d'une part aux matières organiques qu'elle renferme et qui sont capables de fixer le cuivre, et d'autre part à certains de ses constituants minéraux qui, en raison de leur état physique, forment, avec le cuivre, des complexes colloïdaux, dans lesquels le métal devient inactif.

Quoi qu'il en soit, l'action protectrice de l'eau de conduite est assez marquée, spécialement lorsqu'il s'agit des têtards, pour qu'il soit indispensable, lors du transport de ces animaux dans l'eau distillée, de les soumettre à des lavages répétés, de façon à enlever les traces d'eau de conduite qu'ils apportent avec eux,

et dont la présence, même en quantité minime, peut modifier très sensiblement les résultats.

Bien que ces observations n'aient pas de rapport immédiat avec l'étude qui fait l'objet essentiel de ce travail, nous avons tenu à les signaler, en raison des applications qu'elles peuvent trouver, dans des recherches relatives à l'action du milieu extérieur, sur les animaux aquatiques. Nous verrons d'ailleurs plus loin que, si l'eau de source empêche l'action toxique des traces de cuivre, qui peuvent être contenues dans l'eau distillée, elle empêche également et à un assez haut degré l'action des venins ajoutés au milieu extérieur ; nous montrerons que dans ce cas particulier, les effets de l'eau de source sont dus à un élément minéral bien défini et dont on peut manifester aisément l'action, en s'adressant à des milieux artificiellement constitués.

La conclusion importante, qui se dégage de l'ensemble des faits que nous venons de rapporter, c'est que l'eau distillée obtenue par redistillation, ou distillation d'emblée sur verre, constitue un milieu parfaitement favorable à la vie de certains vertébrés d'eau douce. Ce fait constitue une confirmation des données établies, pour la première fois, par LOCKE (1), dans ses études sur les conditions de milieu permettant la vie des têtards, données d'ailleurs vérifiées depuis par divers observateurs, et notamment par ANNE MOORE (2) BANG et OVERTON (3) et que nos recherches nous permettent d'étendre aux trois espèces de poissons d'eau douce, sur lesquels nous avons expérimenté.

II. — ACTION DE QUELQUES SOLUTIONS SALINES

Notre but étant d'étudier spécialement l'influence, qu'exercent les variations de composition du milieu extérieur sur la toxi-

1. *Loc. cit.*

2. *Loc. cit.*

3. BANG et OVERTON. *Biochemische Zeitschrift*, t. XXI, 1911, p. 241.

cité des venins, vis-à-vis de quelques êtres aquatiques, il était indispensable, pour la conduite ultérieure de nos expériences, d'examiner, au moins dans les grandes lignes, comment se comportent les animaux que nous avons choisis, lorsqu'on les met en présence de milieux diversement modifiés par adjonction à l'eau distillée de certains sels et de diverses substances organiques.

Nous ne nous occuperons ici que des sels ; les particularités, relatives à l'action des liquides organiques complexes et de quelques autres substances, trouveront leur place dans les chapitres relatifs à l'étude des effets qu'ils exercent sur les venins.

Les sels neutres des métaux alcalins et alcalino-terreux, et spécialement les chlorures, sont supportés, à doses relativement élevées, par les poissons ou les têtards, exception faite des sels de potassium et surtout de baryum, qui se montrent dans le milieu extérieur, comme en injection dans le sang ou les tissus, notablement plus toxiques que les sels de sodium, de magnésium, de calcium ou de strontium.

Parmi les chlorures des métaux monovalents, NaCl est supporté, pendant plus d'une semaine, tant par les têtards que par les poissons, à la concentration $\frac{N}{10}$, tandis que KCl tue les têtards en quelques heures en solution $\frac{N}{20}$ et même $\frac{N}{50}$.

En solution $\frac{N}{7}$, c'est-à-dire à une concentration correspondant au titre de 8 p. 1000, NaCl ne permet guère aux têtards de survie dépassant 20 à 24 heures. Dans les solutions $\frac{N}{8}$ (7 p. 1000 environ) des têtards restent vivants plusieurs jours, et il en est de même des poissons tels que la tanche, que nous avons pu conserver 5 à 6 jours dans du NaCl à cette concentration.

Il est utile cependant, si l'on veut constituer des milieux artificiels avec NaCl, de ne pas dépasser la concentration $\frac{N}{10}$. Si les animaux peuvent survivre, pendant quelques temps, dans les solutions plus concentrées, ils n'en présentent pas moins, lorsqu'ils sont mis en contact avec ces dernières, des troubles plus

ou moins graves qui, dans le cas particulier, paraissent bien en relation, comme l'ont déjà mentionné HERBERT-ROAF et ED. WHITLEY (1), dans leurs expériences sur les têtards de *Rana temporaria*, avec des modifications de la tension osmotique.

D'après ces auteurs, NaCl et les sels neutres en général, ne seraient réellement très nocifs pour les têtards, qu'à partir des concentrations supérieures à la tension osmotique des humeurs de ces animaux. Mais déjà, bien au-dessous de ces concentrations, on observe une diminution de volume des têtards qui, d'après ROAF et WHITLEY, luttent par ce procédé pour conserver une différence positive en faveur de la tension interne. En fait, certains individus peuvent continuer à vivre après avoir réduit leur volume des $\frac{2}{3}$, et cela dans des solutions de sels neutres de pression osmotique légèrement inférieure à celle des tissus de la grenouille adulte.

Parmi les sels des métaux bivalents, à égalité de concentration moléculaire, les sels de calcium, CaCl_2 par exemple, sont moins bien supportés que NaCl, alors que les sels de magnésium, tel MgCl_2 , semblent relativement peu nocifs.

CaCl_2 , en solution $\frac{N}{10}$, détermine la mort des têtards ou des poissons en 2 ou 3 heures.

La solution $\frac{N}{20}$ n'est pas sans nocivité et il est rare que les animaux y survivent au delà de 24 heures ; il faut arriver aux solutions $\frac{N}{25}$ à $\frac{N}{30}$ pour observer une survie qui atteigne plusieurs jours. Dans les solutions $\frac{N}{50}$, les têtards ou les poissons survivent un temps sensiblement aussi long que dans l'eau distillée.

MgCl_2 , par contre, est parfaitement supporté à la concentration $\frac{N}{10}$, tant par les têtards que par les poissons que nous avons étudiés. Le magnésium est, de tous les métaux bivalents, celui qui se montre le moins toxique. Nos observations, sur ce point, concordent avec celles qu'avaient faites antérieurement ANNE MOORE, H. ROAF et G. WHITLEY, BANG et OVERTON, sur les têtards.

1. H. ROAF et ED. WHITLEY. *Biochemical Journal*, t. I, 1906, p. 88.

SrCl_2 a une toxicité plus forte que CaCl_2 , quoique la différence ne soit point des plus marquées. La solution $\frac{\text{N}}{20}$ tue, en moyenne, les têtards en 3 à 4 heures, c'est-à-dire en un temps sensiblement égal à celui d'une solution de CaCl_2 de concentration double. Les solutions $\frac{\text{N}}{50}$ sont, par contre, fort bien supportées pendant plusieurs jours, aussi bien par les têtards que par les poissons.

Avec BaCl_2 , on retrouve la haute toxicité bien connue que manifestent, vis-à-vis des êtres vivants tous les composés solubles du baryum : les solutions $\frac{\text{N}}{50}$ et même $\frac{\text{N}}{100}$ sont toujours ou presque toujours mortelles, pour les têtards ou les poissons, en moins de 24 heures. Il faut descendre à des solutions $\frac{\text{N}}{300}$ et $\frac{\text{N}}{500}$ pour conserver les animaux vivants pendant plusieurs jours.

Nous mentionnerons, sans nous y arrêter, que, parmi les sels de soude, les oxalates et les citrates se montrent tout particulièrement toxiques, puisqu'ils ne peuvent être supportés qu'à des concentrations inférieures aux solutions $\frac{\text{N}}{100}$. La toxicité de ces sels, qui est vraisemblablement en rapport avec leur action décalcifiante, se retrouve, mais à un degré encore plus marqué, avec les savons tels que l'oléate de soude, par exemple.

On sait, d'ailleurs, que les savons possèdent, outre leur action décalcifiante, la propriété d'abaisser à un haut degré la tension superficielle des liquides, dans lesquels ils sont dissous. Or, il est utile de se rappeler que la plupart des agents qui abaissent la tension superficielle, modifient ou altèrent profondément les éléments cellulaires avec lesquels on les met en contact. Les sels biliaires, taurocholate et glycocholate de soude, qui rentrent dans cette catégorie d'agents — dont on connaît bien, en particulier, la nocivité, pour les globules rouges — ne peuvent guère être supportés par les têtards ou les poissons à des titres supérieurs à $\frac{4}{1000}$ ou $\frac{2}{1000}$.

CHAPITRE III

Toxicité de divers venins sur les vertébrés aquatiques maintenus en milieu d'eau redistillée

Les données essentielles, que nous possédons actuellement, sur l'action physiologique des venins, dérivent de recherches qui ont été poursuivies, presque exclusivement, sur les mammifères. L'expérience a montré, il est vrai, que les autres vertébrés et bon nombre d'invertébrés sont sensibles à l'action de ces poisons, mais aucune recherche systématique n'a été entreprise pour déterminer les particularités que peut révéler l'étude des venins, chez les différents types de la série animale

Déjà il y a plus d'un siècle, FONTANA (1) (1787) avait étudié l'action de venin de vipère sur quelques animaux à sang froid. Il avait conclu de ses recherches, que la grenouille, et certaines espèces de poissons, succombent à la morsure de ce serpent, quoique la mort soit, en général, beaucoup plus tardive que chez les mammifères ou les oiseaux. Par contre, il avait observé que la salamandre, la couleuvre, la tortue et la sangsue résistent à l'action du venin de vipère.

En 1861, WEIR MITCHELL (2) fait une étude très soignée des

1. FONTANA. *Abhandlung über das Viperngift*, Berlin, 1787.

2. WEIR MITCHELL. *Physiology and toxicology of the venom of the rattlesnake*. *Smithsonian Contr. to knowledge*. Washington, 1861.

effets du venin de Crotale sur la grenouille et signale les deux formes d'intoxication que l'on peut observer chez cet animal : un empoisonnement aigu et un empoisonnement chronique. La grenouille a d'ailleurs été assez souvent utilisée depuis, pour mettre en évidence l'action qu'exercent divers venins sur les organes isolés et tout particulièrement sur le muscle et le cœur.

BRUNTON et FRAYER (1), en 1874, injectent du venin de Cobra à deux espèces de poissons, l'*Ophiocephalus morulius* et la carpe, et les voient succomber à la suite de l'injection.

Enfin, plus récemment, NOGUCHI (2) détermine la toxicité de trois espèces de venins, les venins de Cobra, de Mocassin et de Crotale, sur un grand nombre d'animaux à sang froid. Tous ses essais sont pratiqués en injectant directement les animaux dans le péritoine ou dans la cavité générale.

De ses expériences qui ont porté sur un très grand nombre de reptiles, de batraciens, de poissons, d'insectes, de mollusques, de crustacés, de vers et d'échinodermes, NOGUCHI conclut que tous ces animaux sont, à des degrés divers, sensibles à l'action des venins, quoiqu'en règle générale, ils se montrent infiniment plus résistants que les mammifères ou les oiseaux. Des trois venins étudiés, c'est le venin de Cobra qui présente la plus forte toxicité ; le venin de Crotale est le moins actif et sur un certain nombre d'espèces il se montre même presque inoffensif. NOGUCHI retrouve d'ailleurs, sinon dans tous les cas, du moins très fréquemment, les phénomènes qui caractérisent chez les animaux supérieurs, l'intoxication par ces divers venins. Avec le venin de Cobra, ce sont les phénomènes de dépression et de paralysie qui dominent, et les lésions locales sont généralement absentes ; avec le venin de Crotale, on observe le plus souvent, au contraire, des phénomènes congestifs, des extravasations

1. BRUNTON et FRAYER. On the nature and physiological action of the poison of *Naja tripudians* and other Indian venomous snakes. *Proc. Roy. Soc.*, 1874, p. 68.

2. NOGUCHI. The action of snake venom upon cold-blooded animals. *Carnegie Institution of Washington*, n° 12, 1904.

sanguines, des hémorragies localisées spécialement dans les territoires mis en rapport avec le venin.

La plupart des animaux à sang froid, sur lesquels NOGUCHI a expérimenté, sont des êtres aquatiques. C'est également sur des animaux aquatiques, et exclusivement sur des vertébrés d'eau douce, qu'ont porté les recherches que nous nous proposons de développer. Mais, à la différence des expériences qui précèdent, les venins étudiés, au lieu d'être introduits directement dans les tissus ou la cavité péritonéale, ont toujours été ajoutés simplement au milieu extérieur dans lequel étaient maintenus les animaux : eau distillée, eau de source ou solutions salines diverses.

Cette méthode d'étude a été souvent employée, chez les poissons ou les larves d'amphibiens, pour la détermination de la toxicité et de l'action physiologique de certaines substances chimiquement définies. HÉDON (1), en particulier, l'a utilisée avec succès dans ses recherches sur les glucosides, mais elle n'avait pas été appliquée systématiquement jusqu'ici à l'étude des venins. Seuls, BANG et OVERTON (2) ont employé, dans des recherches récentes, les têtards de *Rana temporaria*, en vue de tenter d'élucider quelques points encore obscurs de l'action physiologique du venin de Cobra et du venin de Crotale.

Nos essais, qui ont porté sur huit venins différents, ont été faits en nous adressant spécialement aux trois espèces de poissons (vairon, goujon et tanche) dont nous avons étudié, dans le chapitre précédent, les conditions de vie dans divers milieux. Dans le but de comparer plus aisément nos résultats, à ceux déjà obtenus par BANG et OVERTON, nous avons fait également un assez grand nombre d'expériences en utilisant les têtards.

Nous ne nous occuperons, dans ce chapitre, que de la détermination de la toxicité des divers venins sur les animaux maintenus en milieu d'eau redistillée.

Les expériences, comme toutes celles qui suivront d'ailleurs, ont toujours été faites sur le même type, c'est-à-dire que les ani-

1. HÉDON. *Archives intern. de Pharmacodynamie*, t. VIII, 1901, p. 381.

2. BANG et OVERTON, *loc. cit.*

maux furent mis en présence de quantités fixes et uniformes de liquide : 150 centimètres cubes pour les poissons, 40 centimètres cubes pour les têtards. Les venins dissous, au préalable, en solution concentrée, dans l'eau redistillée, étaient ajoutés, à doses variables au milieu, avant d'y introduire les animaux.

1. — VENIN DE COBRA

A. *Action du venin du Cobra sur les poissons.* — En milieu d'eau redistillée, le venin de Cobra indien (*Naja tripudians*) présente une toxicité sensiblement égale, pour les trois espèces de poissons que nous avons utilisés. Les vairons, les goujons ou les tanches, immergés dans une solution, renfermant une ou plusieurs doses mortelles, montrent, au bout d'un temps variable avec la quantité de venin, introduite dans le milieu, de la torpeur à laquelle succède, peu à peu, une véritable paralysie qui atteint d'abord les organes de la locomotion et finalement l'appareil respiratoire. Les animaux, dont les mouvements deviennent paresseux, perdent l'équilibre, puis tombent sur le côté ; quand la paralysie s'accroît, ils réagissent à peine aux excitations et restent immobiles à la surface de l'eau, ne présentant plus que des mouvements respiratoires atténués. Quand les opercules ont cessé de se soulever, le cœur peut continuer à battre pendant un temps relativement long, de sorte qu'un examen assez minutieux est nécessaire pour déterminer exactement le moment de la mort.

Les solutions, de titre relativement élevé $\frac{1}{25000}$ à $\frac{1}{50000}$, tuent les poissons en un délai très court : les vairons, qui sont particulièrement sensibles, succombent en 15 à 20 minutes en moyenne ; les tanches, plus résistantes, peuvent survivre une heure et quelquefois même davantage. La mort survient encore rapidement, lorsqu'on utilise des solutions à $\frac{1}{100000}$ et $\frac{1}{200000}$, et il faut arriver aux solutions à $\frac{1}{400000}$ et $\frac{1}{600000}$, c'est-à-dire atteindre

les doses minima mortelles, pour voir les animaux résister 6, 8, 10 et exceptionnellement 12 heures. Ce sont d'ailleurs les termes extrêmes que l'on peut observer, car avec des doses encore plus faibles, les animaux ne sont nullement touchés et survivent aussi longtemps que les témoins. Il est utile de faire remarquer, en outre, que ces chiffres, comme ceux que l'on trouvera dans les tableaux qui vont suivre, se rapportent exclusivement à des expériences faites à des températures comprises entre 15° et 18°. A partir de 20°, les essais de toxicité ne présentent plus, en effet, la même régularité et nombre d'animaux succombent en présence de doses, inoffensives aux températures ordinaires. La mortalité devient, d'ailleurs, infiniment plus élevée, chez les animaux témoins eux-mêmes, qu'il est difficile, à ces températures, de conserver, en de bonnes conditions, dans d'autres milieux que l'eau courante.

Les trois tableaux ci-après, dont chacun résume deux expériences faites parallèlement, donnent une idée de la toxicité du venin de Cobra, à diverses concentrations, pour les trois espèces de poissons que nous avons utilisés.

TABLEAU III. — VAIRONS

Titre des solutions de venin de Cobra	Temps de survie des animaux	
	Exp. I	Exp. II
1 : 20.000	43 minutes	45 minutes
1 : 50.000	48 id.	23 id.
1 : 100.000	27 id.	20 id.
1 : 200.000	53 id.	38 id.
1 : 400.000	3 heures 50 minutes	4 heures 15 minutes
1 : 600.000	5 heures 30 minutes	7 heures
1 : 800.000	Vivant après 48 heures	Vivant après 48 heures
1 : 1.000.000	id.	id.

TABLEAU IV. — GOIJONS

Titre des solutions de venin de Cobra	Temps de survie des animaux	
	Exp. I	Exp. II
1 : 50 000	32 minutes	38 minutes
1 : 100 000	40 id.	51 id.
1 : 200 000	1 heure 10 minutes	—
1 : 300 000	—	2 heures 55 minutes
1 : 400 000	11 heures	—
1 : 600 000	Vivant après 48 heures	Vivant après 48 heures
1 : 800 000	id.	id.

TABLEAU V. — TANCHES

Titre des solutions de venin de Cobra	Temps de survie des animaux	
	Exp. I	Exp. II
1 : 50.000	1 heure 20 minutes	—
1 : 100.000	2 heures 25 minutes	1 heure 55 minutes
1 : 200.000	6 heures 30 minutes	—
1 : 300.000	—	5 heures 40 minutes
1 : 400.000	7 heures 45 minutes	—
1 : 600.000	Vivant après 48 heures	Vivant après 48 heures
1 : 800.000	id.	id.

B. *Action du venin de Cobra sur les têtards.* — Les têtards de *Rana temporaria*, immergés dans les solutions de venin de Cobra, se comportent à peu près de la même façon que les poissons. Il est à signaler, toutefois, que la paralysie, qui apparaît

plus ou moins tardivement, suivant la dose du venin employée, évolue, en général, plus lentement chez ces animaux que chez les poissons ; d'autre part, c'est surtout chez les têtards que l'on peut observer la persistance prolongée des battements du cœur, alors que la respiration a totalement cessé, et qu'il est devenu impossible de provoquer artificiellement la moindre réaction motrice ou sensitive.

Dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placé (volume du liquide extérieur à 40 centimètres cubes), la mort survenait d'ordinaire en moins d'une heure lorsqu'on utilisait des solutions de venin de titre supérieur à $\frac{1}{50000}$. Elle se produisait en 4 à 6 heures avec des solutions à $\frac{1}{200000}$; enfin elle n'apparaissait qu'après 12 à 15 heures, quelquefois même après 24 heures, quand on descendait aux doses limites, c'est-à-dire à des solutions devenues comprises entre $\frac{1}{400000}$ et $\frac{1}{500000}$.

Dans les solutions de titre inférieur à $\frac{1}{500000}$, les animaux ont toujours survécu, alors que BANG et OVERTON signalent que, dans leurs expériences, les têtards succombaient encore fréquemment dans des solutions à $\frac{1}{1000000}$ et même à $\frac{1}{1560000}$. Ces différences s'expliquent, si on suppose que BANG et OVERTON ont eu à leur disposition un échantillon de venin de Cobra indien d'activité exceptionnelle. Nous ferons remarquer, toutefois, que nous avons nous-même opéré avec plusieurs échantillons de venin, d'origines différentes, et que nous n'avons observé, dans leur degré d'activité, tant sur les animaux aquatiques que sur les mammifères, que d'assez minimes différences. Le tableau que l'on trouvera plus loin résume deux de nos expériences relatives à l'action du venin de Cobra indien sur les têtards.

Ayant eu à notre disposition, au laboratoire de M. DELEZENNE, plusieurs exemplaires vivants de Cobras africains (*Naja haje*), nous avons pu comparer la toxicité du venin de ces serpents, dont nous avons fait nous-même la récolte, à la toxicité du venin de Cobra indien. Nous avons constaté, que vis à vis des

TABLEAU VI. — TÊTARDS

Titre des solutions de venin de cobra	Temps de survie des animaux	
	Exp. I.	Exp. II
1 : 20.000	28 minutes	49 minutes
1 : 50.000	45 id.	1 heure 10 minutes
1 : 100.000	2 heures	1 heure 45 minutes
1 : 200.000	4 heures 30 minutes	5 heures
1 : 400.000	45 heures	13 heures
1 : 600.000	Vivant après 48 heures	Vivant après 48 heures

vairons, le venin de *Naja haje* est deux à trois fois moins toxique que le venin de *Naja tripudians*.

C. *Hypersensibilité des têtards au venin de Cobra* — Si les animaux sont retirés du milieu eau distillée-venin et transportés dans l'eau redistillée pure ou dans l'eau de conduite, avant que les phénomènes paralytiques ne soient manifestes, ils peuvent être maintenus en vie pendant un temps aussi long que les témoins. C'est là un fait qu'avaient déjà signalé BANG et OVERTON et que nous avons observé de notre côté, non seulement avec les têtards, mais aussi avec les poissons.

Les expériences qui vont suivre montrent que l'on peut faire de cette donnée une intéressante application.

Nous nous étions demandé s'il est possible d'accoutumer, ou d'immuniser jusqu'à un certain degré, les animaux aquatiques, vis-à-vis du venin de Cobra, en faisant agir celui-ci dans le milieu extérieur, soit à dose progressivement croissante, soit, mieux encore, pendant des temps d'immersion de plus en plus prolongés. Ces essais d'accoutumance ont complètement échoué, mais nous avons observé, par contre, en utilisant les têtards, tout au moins, que ceux-ci manifestent une véritable hypersensibilité, vis-à-vis du venin de Cobra, lorsqu'ils ont été

immergés une première fois, dans des solutions renfermant une dose mortelle de venin, mais pendant un temps assez court pour qu'il en résulte quelque dommage apparent pour l'animal.

Pratiquement, l'expérience était réalisée de la façon suivante :

Des têtards sont plongés pendant 1 à 2 heures dans une solution de venin à $\frac{1}{400000}$ dans l'eau distillée. Au sortir de la solution de venin, les têtards sont soigneusement lavés, puis remis dans l'eau de source et conservés dans les mêmes conditions que d'autres têtards de même taille et de même provenance qui serviront de témoins.

Douze jours plus tard, les deux lots d'animaux sont immergés dans une solution de venin à $\frac{1}{400000}$. Après une heure d'immersion les animaux sont soigneusement lavés et transportés dans des cristallisoirs renfermant de l'eau redistillée pure. Les têtards, qui avaient subi antérieurement l'action du venin, sont paralysés au bout de 2 à 3 heures et succombent pour la plupart, en moins de 15 heures, alors que les témoins ne présentent aucun phénomène, et sont encore vivants après plusieurs jours.

Cette expérience, répétée plusieurs fois, a toujours donné les mêmes résultats. Il ne paraît donc pas douteux que les têtards, soumis une première fois à l'action du venin de Cobra, se montrent ultérieurement plus sensibles aux effets nocifs de ce poison.

Si intéressantes qu'elles soient, ces données nous paraissent insuffisantes, à elles seules, pour nous permettre de classer d'emblée les faits observés dans le cadre, déjà fort élargi, des phénomènes anaphylactiques (1). L'anaphylaxie, telle que nous la connaissons depuis les premières recherches de RICHET et POR-

1. Chez les mammifères, les venins, injectés sous la peau ou dans les veines, déterminent incontestablement des phénomènes anaphylactiques, ainsi que l'a fort bien établi ARTHUS (*Arch. intern. de Physiol.*, t. XII, p. 271, et p. 369, 1912).

TIER, consiste essentiellement, à vrai dire, en une augmentation de la sensibilité des animaux vis-à-vis des effets nocifs de substances dont ils ont subi une première fois l'imprégnation, mais on sait, en outre, qu'elle se caractérise par un ensemble de phénomènes réactionnels particuliers, qui varient d'ailleurs avec l'espèce animale utilisée, le mode d'introduction du poison, etc. Dans le cas qui nous intéresse, l'hypersensibilité à l'action toxique, en quelque sorte globale, du venin est le seul fait que nous puissions mettre en lumière, une analyse physiologique délicate des phénomènes qui l'accompagnent étant impossible chez les êtres que nous avons utilisés.

D. Action du chauffage en milieu neutre et en milieu acide sur la toxicité du venin de Cobra. — On sait que le venin de Cobra perd ses propriétés toxiques, pour les animaux supérieurs, lorsque ses solutions aqueuses sont portées à la température de 100°, pendant un temps convenable. En milieu neutre ou légèrement alcalin, la destruction du venin est assez rapide et dix minutes d'ébullition suffisent d'ordinaire pour faire disparaître, presque totalement, ses propriétés primitives. Par contre, en milieu acide (MORGENROTH) (1), le venin de Cobra n'est pas sensiblement modifié, même par un chauffage prolongé à 100°. C'est ainsi qu'en solution d' $\text{HCl} \frac{\text{N}}{10}$, le venin de Cobra peut être porté pendant 6 heures à 100° sans qu'on observe, après neutralisation, une baisse appréciable de sa toxicité primitive.

Si nous insistons sur ce fait, c'est que nous aurons à montrer plus loin que les propriétés diastasiques du venin de Cobra, vis-à-vis des phosphatides du sérum ou du vitellus de l'œuf, sont modifiées par le chauffage parallèlement aux propriétés toxiques. Détruit ou du moins très fortement atténué par un chauffage de courte durée à 100°, en milieu neutre, le ferment des phosphatides résiste presque indéfiniment lorsqu'on réalise le chauffage du venin en milieu d' $\text{HCl} \frac{\text{N}}{10}$.

1. MORGENROTH. *Berlin klin. Woch.*, 1905, t. XLII, p. 1530.

Les expériences, que nous rapportons ci-dessous, montrent qu'il est facile de mettre en évidence l'action de la température et l'effet protecteur des acides sur le venin de Cobra, en prenant comme test les animaux aquatiques.

TABLEAU VII. — VAIRONS (solution de venin de Cobra à 4 : 100.000)

Etat du venin	Temps de survie des animaux	
	Exp. I	Exp. II
Venin non chauffé	22 minutes	19 minutes
Venin chauffé en milieu neutre 10 minutes à 100°.	Vivant après 48 heures	Vivant après 48 heures
Venin chauffé en solution d'HCl $\frac{N}{10}$ 10 min. à 100° puis neutralisé.	17 minutes	25 minutes

II. — VENINS DES VIPÉRIDÉS

Le venin de Cobra n'est pas le seul qui, par simple addition au milieu extérieur, se montre toxique pour les vertébrés aquatiques. A des degrés divers, tous les venins de serpents peuvent entraîner la mort des poissons ou des têtards, s'ils sont ajoutés, à dose convenable, à l'eau redistillée dans laquelle sont immergés ces animaux.

On sait que, chez les animaux supérieurs, le venin de Cobra et l'on peut ajouter le venin de la plupart des *Colubridés*, agissent presque exclusivement par leurs propriétés curarisantes et neurotoxiques. Ce sont des poisons paralysants, dont les effets locaux sont généralement nuls ou très peu marqués. Les venins des *Vipéridés*, par contre, déterminent, *in situ*, des lésions plus ou moins étendues ; ils altèrent les humeurs, provoquent des hémorragies, et modifient profondément la coagulabilité du sang. Le venin de *Daboia*, par exemple, que l'on peut considé-

rer comme le type des venins de Vipéridés, tue les animaux presque instantanément, par coagulation intravasculaire généralisée, alors même qu'il est introduit à très faible dose dans les vaisseaux. En injections sous-cutanées, il détermine, outre des lésions locales plus ou moins graves, l'incoagulabilité du sang, des extravasations sanguines, des hémorragies, etc., phénomènes que l'on retrouve avec toute une série de venin, tels ceux des *Lachesis*, des *Crotales*, etc.

Il était intéressant de rechercher si ces divers venins se comportent, sur les animaux aquatiques, autrement que le venin de Cobra, et quel est leur degré de toxicité chez ces animaux, dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placé. Il y avait lieu, d'autre part, de comparer leur toxicité, non seulement à celle du venin de Cobra, mais encore à la toxicité qu'ils manifestent eux-mêmes chez les mammifères, lorsqu'ils sont injectés dans les veines ou sous la peau.

A. *Venin de Daboia*. — Chez les mammifères, le lapin par exemple, le venin de Daboia (*Vipera russellii*) présente, en injection sous-cutanée, une toxicité assez voisine de celle du venin de cobra, la dose minima mortelle oscillant entre 0 mgr. 5 et 1 mgr. par kilogramme. En injection intraveineuse, il est, par contre, 5 à 10 fois plus toxique que le venin de Cobra, mais dans ce cas, la mort doit être exclusivement rapportée à la coagulation intravasculaire, presque immédiate, qu'il détermine.

En milieu d'eau redistillée, le venin de Daboia, se montre, pour les poissons, un peu plus toxique que le venin de Cobra. Vis-à-vis des vairons, par exemple, la dose minima mortelle oscille autour d'une solution à $\frac{1}{700000}$. Dans les solutions à $\frac{1}{600000}$ aucun animal ne résiste, et la mort se produit généralement au bout de 4 à 5 heures.

Des concentrations plus fortes tuent d'autant plus vite que les quantités de venin, mises en présence des animaux, sont elles-mêmes plus élevées. Mais on observe toujours, même avec les plus fortes concentrations ($\frac{1}{10000}$, $\frac{1}{25000}$), qu'un temps perdu, de

10 à 15 minutes au moins, précède l'apparition des premiers phénomènes provoqués par le venin.

A un examen superficiel, ces phénomènes paraissent rappeler ceux qui caractérisent l'intoxication par le venin de Cobra : les animaux, après avoir présenté de la torpeur, de la paresse dans les mouvements, perdent l'équilibre et tombent sur le flanc comme s'ils étaient paralysés, mais on constate qu'il suffit souvent d'une légère excitation pour réveiller les mouvements. D'autre part, il est fréquent d'observer, au cours de l'intoxication, des périodes d'excitation convulsive que l'on peut d'ailleurs provoquer aisément, même à l'approche de la mort. En général, la respiration est nettement accélérée et les mouvements des opercules plus étendus que normalement, à l'inverse de ce qui s'observe avec le venin de Cobra.

Quand la dose de venin n'est pas trop élevée et que la mort met un certain temps à se produire, on constate que les muqueuses, l'appareil branchial et les nageoires s'hyperémient fortement et deviennent, le plus souvent même, nettement hémorragiques. Dans la plupart des cas, le milieu extérieur apparaît alors sanguinolent, ce qui ne se produit pas, ou ne se produit que très exceptionnellement, dans l'intoxication par le venin de Cobra. En règle générale, la mort survient assez brusquement, le cœur cessant de battre presque en même temps que s'arrête la respiration.

Les têtards se montrent beaucoup moins sensibles au venin de Daboia que les poissons. Alors que vis-à-vis des vairons par exemple, Cobra et Daboia ont à peu près la même toxicité, vis-à-vis des têtards, le Daboia est 10 à 12 fois moins toxique que le Cobra. C'est là un fait qui n'a pas lieu de nous étonner car nous savons que chez les mammifères, des individus d'espèces différentes peuvent se montrer très inégalement susceptibles à l'égard d'un même venin. Les différences peuvent d'ailleurs être bien plus marquées encore, lorsqu'on étudie l'action de divers venins sur les éléments cellulaires isolés, tels les globules rouges par exemple : on sait que certaines espèces globulaires se montrent totalement réfractaires à l'égard

d'un venin déterminé, alors que, dans les mêmes conditions, les globules d'autres espèces sont très facilement hémolysés.

Il est difficile d'analyser les phénomènes que provoque le venin de Daboia chez les têtards, toutefois, dans leur ensemble, ces phénomènes paraissent se rapprocher d'assez près de ceux que nous avons signalés chez les poissons. Nous mentionnerons, en particulier, qu'à l'inverse du venin de Cobra, le Daboia produit fréquemment, chez les têtards comme chez les poissons, des hyperémies et des hémorragies qui sont surtout visibles au niveau de la membrane très mince, qui constitue la nageoire caudale.

Le tableau ci-dessous donne une idée de la toxicité, pour le vairon et le têtard, de solutions, diversement concentrées, de venin de Daboia, dans l'eau redistillée.

TABLEAU VIII

Espèce animale	Titre des solutions	Temps de survie des animaux
Vairons	1 : 25.000	25 minutes
	1 : 50.000	32 minutes
	1 : 100.000	40 minutes
	1 : 200.000	1 heure 10 minutes
	1 : 400.000	2 heures 50 minutes
	1 : 600.000	4 heures
	1 : 800.000	Vivant après 48 heures
Têtards de <i>Rana temporaria</i>	1 : 10.000	45 minutes
	1 : 20.000	1 heure 30 minutes
	1 : 40.000	Trouvé mort après 15 h.
	1 : 60.000	Vivant après 48 heures

B. *Venin de Trimeresurus*. — Le venin de *Trimeresurus* (*Lachesis flavoridis* ou *Trimeresurus rukianus*) est moins toxique, pour les mammifères, que le venin de Daboia. Chez le lapin, la dose mortelle, en injection sous-cutanée, est de 2 à 3 milligrammes par kilogramme. Ce venin paraît déterminer, plus aisément encore que le venin de Daboia, des phénomènes locaux graves ; mais son action coagulante (en injection intraveineuse) est beaucoup moins marquée ; d'autre part, il ne paraît pas totalement dépourvu de propriétés neurotoxiques.

TABLEAU IX

Espèce animale	Titre des solutions	Temps de survie des animaux
Vairons	1 : 10.000	13 minutes
	1 : 25.000	20 id.
	1 : 50.000	30 id.
	1 : 100.000	1 heure 40 minutes
	1 : 200.000	Vivant après 48 heures
	1 : 300.000	id.
Têtards de <i>Rana temporaria</i>	1 : 2.000	1 heure 30 minutes
	1 : 5.000	3 heures
	1 : 10.000	Trouvé mort après 15 h.
	1 : 20.000	Vivant après 48 heures
	1 : 50.000	id.

Chez les poissons (vairons), le *Trimeresurus* s'est montré 4 à 5 fois moins toxique que le Daboia. La dose minima mortelle a oscillé, en effet, autour d'une solution à $\frac{1}{450000}$. Les phénomènes observés ne se sont guère différenciés de ceux que provoque le Daboia, mais il est à noter, toutefois, que les doses

moyennes, voire même les doses limites, tuent en un délai relativement court, et que les hémorragies ne présentent pas vraisemblablement du fait même de la brève durée de l'intoxication) la même intensité qu'avec le venin de Daboia.

Comme le Daboia, le *Trimeresurus* est infiniment moins nocif pour les têtards que pour les poissons. Alors que, vis-à-vis de ces derniers, il est 4 à 6 fois moins actif que le venin de cobra, il se montre, pour les têtards, près de 40 fois moins toxique que le venin de Cobra.

Nous croyons inutile d'insister davantage sur ces données que résument les chiffres des expériences, consignés dans le tableau ci-dessus (tableau IX).

C. Venins de Crotale, de Bothrops, de Vipère et de Céraste. — Nous avons fait quelques essais avec d'autres venins qui sont sensiblement moins nocifs, pour les mammifères, que les précédents: Nous avons utilisé deux venins de Crotales (*Crotalus horridus* et *Crotalus terrificus*), un venin de Bothrops de la Martinique (*Lachesis lanceolatus*), un venin de Vipère de France (*Vipera aspis*) et un venin de Vipère à cornes d'Algérie (*Cerastes cornutus*).

Ces divers venins, sauf le venin de Vipère de France, se sont montré, vis-à-vis des poissons ou des têtards, beaucoup moins actifs que le Daboia ou le *Trimeresurus*, mais c'est encore à l'égard de ces derniers que la toxicité a été le moins accusée. Le venin de *Crotalus terrificus*, par exemple, qui tuait encore les vairons en solution à $\frac{1}{30000}$, n'exerçait aucune action sur les têtards, à des concentrations inférieures à $\frac{1}{5000}$, et encore fallait-il attendre 12 à 15 heures, quelquefois même 24 heures, pour obtenir la mort avec des quantités de venin dépassant, très sensiblement, la dose minima mortelle. D'autre part, le venin de Crotale ne commençait à manifester son action, qu'après un long temps perdu. Nous avons observé que, chez les vairons, en particulier, des quantités de venin, très supérieures à la dose mortelle ne faisaient apparaître les premiers symptômes d'intoxication,

qu'après 5, 8 et même 13 heures. C'est là un fait qui paraît particulier au venin de Crotale, et que nous n'avons jamais observé en tout cas, ni avec le venin de Cobra, ni avec les venins de Daboia ou de Trimeresurus.

La faible toxicité, manifestée par le venin de Crotale, pour les vertébrés aquatiques, dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placé, avait déjà été signalée par BANG et OVERTON (1) dans leurs essais sur les têtards avec le venin de *Crotalus adamanteus*. On se rappelle, d'autre part, que NOGUCHI (2), en ayant recours à la méthode des injections intrapéritonéales ou cavitaires, avait observé que les animaux à sang froid supportent, beaucoup plus facilement, le venin de Crotale que le venin de Cobra. En fait, la différence de toxicité entre les deux venins, déjà nette lorsqu'on opère sur les mammifères, s'accuse lorsqu'on s'adresse aux animaux à sang froid, et il est intéressant de noter que, chez les vertébrés aquatiques, cette différence peut être mise très facilement en évidence, par la méthode d'étude que nous avons choisie, et qui consiste à faire simplement agir les venins dans le milieu extérieur.

Le venin de Bothrops a sensiblement la même toxicité, pour les têtards, que le venin de Crotale, mais nous ne l'avons pas expérimenté chez les poissons.

Le venin de *Vipera aspis*, qui, par contre, n'a été essayé que chez les vairons, tuait ces animaux à la concentration de $\frac{1}{400000}$ en 6 heures environ. Des concentrations un peu plus faibles pouvaient encore se montrer efficaces, après 8 ou 10 heures; au-dessous de $\frac{1}{200000}$ les animaux ont toujours résisté indéfiniment.

De tous les venins étudiés, celui qui s'est montré le moins nocif pour les vairons, est le venin de Vipère à cornes. Ce venin, qui avait été récolté par nous-même sur des serpents, envoyés d'Algérie par M. Seurat, était complètement inoffensif pour les

1. *Loc. cit.*

2. *Loc. cit.*

vairons, à la concentration de $\frac{1}{15000}$, et il fallait atteindre les concentrations de $\frac{1}{12000}$ et $\frac{1}{10000}$, pour obtenir la mort en quelques heures.

Nous avons pu conserver des vairons, pendant plus d'une semaine, dans de l'eau redistillée renfermant une quantité de venin de *Cerastes cornutus*, plus de quarante fois supérieure aux doses minima mortelles de Cobra ou de venin de Daboia.

Quelques essais, faits avec le venin d'une autre espèce de Céraste (*Cerastes vipera*), nous ont donné des résultats sensiblement du même ordre que les précédents.

CHAPITRE IV

Action de différents sels sur la toxicité des venins vis-à-vis des animaux aquatiques. Pouvoir antagoniste des sels de calcium

Si l'on substitue, dans les essais de toxicité des divers venins, l'eau de source à l'eau redistillée, on est immédiatement frappé de ce fait, que les poissons ou les têtards peuvent supporter impunément, en milieu d'eau de source, des doses de venin très supérieures à celles qui se montrent rapidement mortelles en milieu d'eau redistillée.

Alors que, dans l'eau redistillée, les vairons, par exemple, succombent déjà invariablement au venin de Cobra, quand celui-ci est utilisé à des concentrations égales à $\frac{1}{400000}$ et même à $\frac{1}{600000}$, les mêmes animaux résistent pour ainsi dire indéfiniment, quand le venin est dissout dans l'eau de conduite, en quantités 3, 10 et même 20 fois plus fortes : les animaux, mis en présence de solutions de venin à $\frac{1}{50000}$, dans l'eau de conduite, étaient encore vivants et parfaitement normaux, après 48 heures (1), et bon nombre d'entre eux ont d'ailleurs survécu

(1) Passé ce délai, les animaux, qui n'ont présenté aucun phénomène d'intoxication, survivent d'ordinaire aussi longtemps que les animaux témoins, conservés simplement en milieu d'eau de conduite, dans les mêmes conditions de température, de volume de liquide, d'aération, etc.

dans des solutions à $\frac{1}{250000}$. Or on se rappelle, que des solutions de même titre, faites dans l'eau redistillée, déterminent, le plus souvent, la mort de ces poissons, en moins d'un quart d'heure.

On observe des résultats du même ordre, lorsqu'on substitue aux vairons, les tanches ou les goujons. Quant aux têtards, ils ne se comportent pas autrement que les poissons, et il est non moins facile de mettre en évidence avec eux, l'action protectrice de l'eau de conduite.

Cette action protectrice s'observe d'ailleurs, non seulement vis-à-vis du venin de Cobra, mais encore vis-à-vis des divers venins des vipéridés que nous avons étudiés. Il est intéressant de noter, à cet égard, que les venins tels que le Daboia, dont l'action physiologique paraît si différente de celle du venin de Cobra, sont tous aussi efficacement neutralisés par l'eau de conduite, que ce dernier.

Le tableau ci-dessous fournit un exemple de la toxicité comparée, en milieu d'eau redistillée et en milieu d'eau de conduite, des venins de Cobra et de Daboia, pour les vairons.

TABLEAU X. — VAIRONS

Nature du venin	Titre des solutions	Durée de la survie des animaux	
		Eau redistillée	Eau de conduite
Cobra	1 : 200.000	2 heures 45	Vivant après 48 h.
	1 : 50.000	22 minutes	id.
	1 : 25.000	14 minutes	45 heures
Daboia	1 : 300.000	1 heure 50	Vivant après 48 h.
	1 : 100.000	45 minutes	id.
	1 : 25.000	23 minutes	id.

Il y avait lieu de se demander si la résistance aux venins, des animaux aquatiques, maintenus en milieu d'eau de conduite, s'explique uniquement par la présence d'électrolytes dans ce liquide, et si une certaine concentration saline du milieu, quelle que soit la nature du sel dissout, peut suffire à empêcher, dans une certaine mesure, les effets nocifs habituels des venins.

Nous avons étudié systématiquement, à ce point de vue, l'action des sels neutres et tout spécialement des chlorures des métaux alcalins et alcalino-terreux.

L'expérience nous montra, tout d'abord, que les sels neutres des métaux, alcalins n'exercent aucune action protectrice vis-à-vis des venins, alors même que ces sels sont utilisés à des concentrations relativement élevées et notablement supérieures, en tout cas, à la concentration saline de l'eau de conduite.

En concentration $\frac{N}{100}$, $\frac{N}{50}$ et même $\frac{N}{20}$, NaCl par exemple, ne modifie en aucune façon la toxicité du venin de cobra. Le temps de survie des poissons, vairons ou tanches, ne diffère pas, en effet, que le venin soit dissout dans l'eau redistillée pure ou dans l'eau redistillée contenant NaCl, et cela, même quand on utilise des doses de venin à peine supérieures à la dose minima mortelle.

Lorsqu'on atteint des concentrations salines plus fortes, concentrations qui correspondent aux doses limites de sel, compatibles avec la vie des animaux (voir chapitre II), les résultats ne sont guère modifiés : si l'on observe dans quelques cas des retards dans l'apparition des accidents, il en est d'autres, et ceux-ci nous ont paru au moins aussi fréquents, ou la mort se produit, au contraire, plus rapidement que chez les témoins.

Vis-à-vis du venin de Daboia, NaCl se montre souvent, par contre, quelque peu efficace. A dose moyenne et à dose forte, tout au moins, ce sel retarde presque toujours la mort des poissons. Il est exceptionnel, cependant, que les animaux soient définitivement protégés, même quand la quantité de venin, contenue dans le milieu, ne dépasse pas sensiblement la dose minima mortelle, la plupart d'entre eux succombent, dans un délai qui n'excède pas 12 à 24 heures. Nous verrons plus loin d'ailleurs, que cette très faible action des doses fortes de NaCl ne doit pas

nécessairement être rapportée à ce sel lui-même, mais peut s'expliquer par la présence des traces de chaux, qu'il apporte souvent avec lui, ou dont il détermine indirectement le passage dans le milieu extérieur.

En raison de la toxicité propre qu'il manifeste, lorsqu'il est ajouté au milieu extérieur à doses élevées, KCl n'a pu être utilisé qu'à des concentrations relativement faibles, mais jusqu'aux limites où il se montre par lui même inoffensif, ce sel n'a jamais exercé la moindre action antagoniste, vis-à-vis du venin de Cobra ou du venin de Daboia. LiCl, d'autre part, ne s'est pas comporté autrement que NaCl ou KCl, et n'a exercé, dans aucun cas, d'action protectrice réellement appréciable.

Je me bornerai à rapporter deux expériences, qui montrent l'effet des doses moyennes et des doses fortes de NaCl, sur la toxicité des venins de Cobra et de Daboia, chez les vairons.

TABLEAU XI. — VAIRONS

Nature du venin	Titre des solutions de venin	Concentration du milieu en NaCl	Durée de la survie des animaux
Cobra	1 : 100.000	eau redistil. pure	25 minutes
	»	N : 100	48 id.
	»	N : 50	35 id.
	»	N : 25	29 id.
	»	N : 10	1 heure 15
Daboia	1 : 200.000	eau redistil. pure	1 heure 20
	»	N : 200	1 heure 45
	»	N : 100	2 heures 30
	»	N : 50	11 heures (1)
	»	N : 25	15 heures (1)

(1) Il est à noter que ces animaux, bien qu'ayant survécu pendant un temps assez long, ont présenté, presque aussi vite que les témoins, des mouvements convulsifs et de la parésie qui se sont progressivement amendés. Seules les hémorragies ont apparu plus tardivement.

Parmi les sels des métaux bivalents, les sels de magnésium, et spécialement MgCl_2 , sont également inefficaces vis-à-vis du venin de cobra, lorsqu'ils sont utilisés aux concentrations $\frac{\text{N}}{200}$, $\frac{\text{N}}{100}$ et $\frac{\text{N}}{50}$. Même à ce titre, déjà relativement élevé, on n'observe qu'exceptionnellement un retard de la mort.

A des concentrations plus fortes (MgCl_2 $\frac{\text{N}}{25}$ et $\frac{\text{N}}{10}$), on obtient presque toujours des survies de quelques heures, mais il est rare cependant que les animaux résistent définitivement aux effets de doses, sûrement mortelles, de venin de cobra.

Vis-à-vis du venin de Daboia, l'action protectrice de MgCl_2 , comme celle de NaCl , est sensiblement plus accusée. Dans les solutions fortement concentrées (MgCl_2 $\frac{\text{N}}{25}$ et $\frac{\text{N}}{10}$), on peut même obtenir des survies définitives, à la condition toutefois que les quantités de venin, mises en présence des animaux, ne dépassent pas de beaucoup les doses minima mortelles.

Cette faible action des solutions concentrées de MgCl_2 lui appartient-elle en propre ? La chose est possible, mais on est en droit de supposer également qu'il s'agit d'une action d'emprunt. Cette dernière hypothèse paraîtra sans doute justifiée, quand nous aurons montré quel degré d'activité neutralisante, peuvent manifester, vis-à-vis du venin de Daboia en particulier, les doses infinitésimales de calcium.

A l'inverse, des sels que nous venons d'étudier, les sels de calcium se montrent en effet de très puissants antagonistes des venins, et c'est à leur action quasi spécifique, qu'il faut certainement rapporter les résultats que nous avons obtenus en substituant, dans les expériences préliminaires, l'eau de conduite à l'eau redistillée. D'ailleurs BANG et OVERTON (1), dans leurs recherches sur les têtards, avaient déjà montré que les sels de chaux s'opposent, dans une large mesure, à l'action nocive du venin de Cobra, sur ces animaux. L'étude systématique que nous avons poursuivie, en choisissant spécialement comme test les poissons,

1. *Loc. cit.*

nous permet, non seulement de confirmer et d'étendre les résultats de ces auteurs, mais de fournir des documents, rigoureusement comparatifs, sur l'action des différents sels, puisque nous avons fait agir les uns et les autres, à doses équimoléculaires, vis-à-vis de quantités déterminées de venin de Cobra ou de Daboia.

Le tableau suivant montrera, tout d'abord, l'influence qu'exercent des doses correspondantes de NaCl , MgCl^2 et CaCl^2 , ajoutées à une solution de venin de Cobra à $\frac{1}{50000}$, que l'on fait agir sur les tanches.

Deux animaux témoins, maintenus dans une solution de venin, au même titre, dans l'eau redistillée, sont morts, l'un au bout de 1 heure 10, l'autre après 1 heure 40.

TABLEAU XII. — TANCHES

Concentration des différents sels	Durée de la survie des animaux		
	NaCl	MgCl^2	CaCl^2
N : 10,000	—	—	1 heure 50
N : 5,000	—	—	2 heures 20
N : 2,000	—	—	4 heures 15
N : 1,000	—	—	5 heures 45
N : 500	1 heure 15	1 heure 20	vivant après 48 h.
N : 200	1 heure	1 heure 45	id.
N : 100	1 heure 35	1 heure 25	id.
N : 50	55 minutes	2 heures 15	id.
N : 25	1 heure 30	4 heures 50	id.

Vis-à-vis d'une dose de venin, huit fois supérieure à la dose mortelle, CaCl^2 , ajouté au milieu extérieur (eau redistillée), peut donc préserver définitivement les animaux, à partir de la con-

centration $\frac{N}{500}$, alors que NaCl et MgCl² sont totalement inefficaces, à des concentrations dix fois et même vingt fois plus fortes.

En présence de doses de venin plus faibles, doses égales ou à peine supérieures à la dose mortelle, les concentrations $\frac{N}{1000}$, $\frac{N}{2000}$ et $\frac{N}{5000}$, insuffisantes pour protéger définitivement les animaux, contre les effets du venin de Cobra, se montrent souvent encore très efficaces, s'il s'agit du venin de Daboia. Vis-à-vis de ce dernier, qui est particulièrement sensible à l'action neutralisante de la chaux, les concentrations $\frac{N}{10000}$ et $\frac{N}{20000}$ suffisent pour retarder, très manifestement, l'apparition des accidents et reculer de quelques heures le moment de la mort, même lorsqu'on utilise des quantités de venin plusieurs fois supérieures à la dose mortelle.

Voici un exemple très net, qui nous en a été fourni en opérant sur les vairons.

TABLEAU XIII. — VAIRONS

Titre de la solution de venin de Daboia	Concentration du milieu en CaCl ²	Durée de la survie des animaux
1 : 100.000	Eau redistillée pure	45 minutes
»	N : 20.000	3 heures 40
»	N : 10.000	5 heures 30
»	N : 5.000	12 heures
»	N : 2.000	vivant après 48 heures
»	N : 1.000	id.
»	N : 500	id.
»	N : 200	id.

Comme nous l'indiquions plus haut, MgCl² et NaCl peuvent, dans des conditions expérimentales analogues (emploi de doses

limites de venin) augmenter eux aussi, la durée de la survie des animaux, mais on n'observe ces résultats, qu'à la condition d'utiliser ces sels, à des concentrations cinq cents ou mille fois plus fortes.

On peut se demander si cette minime action, des doses fortes de $MgCl^2$ et $NaCl$, n'est pas due, pour une grande part tout au moins, aux traces de chaux que renferment, presque toujours, les sels de sodium et de magnésium dits purs, du commerce.

On sait, d'autre part, que les animaux aquatiques, mis en présence de solutions salines fortement concentrées, sont soumis à des échanges avec le milieu extérieur, et qu'ils cèdent aisément, à ce dernier, une part des substances diffusibles, qui entrent dans la constitution de leurs humeurs.

Peut-être les traces de chaux, qu'empruntent, en quelque sorte, aux animaux, les milieux fortement salés, dans lesquels ils sont immergés, suffisent-elles à diminuer elles aussi, dans une certaine mesure, l'action toxique des doses limites de venin.

Quand on augmente la teneur en calcium du milieu extérieur, les animaux peuvent supporter des doses considérables de venin, sans présenter d'accident. Dans les solutions $\frac{N}{50}$ et $\frac{N}{25}$ de $CaCl^2$, le venin de Cobra, par exemple, se montre presque toujours inoffensif, même au titre de $\frac{1}{10000}$. En présence de ces quantités de $CaCl^2$, qui ne dépassent pas deux à quatre grammes par litre, les animaux résistent, par conséquent, à des doses de venin cinquante et soixante fois supérieures à la dose mortelle. On ne peut d'ailleurs songer à protéger définitivement les animaux, contre des quantités de venin sensiblement plus élevées, en augmentant davantage encore, la teneur en chaux du milieu extérieur, puisque les concentrations, supérieures à celles que nous venons d'indiquer, ne sont déjà plus inoffensives par elles-mêmes. Mais il est à noter que, même dans les solutions $\frac{N}{25}$ ou $\frac{N}{50}$, les poissons peuvent supporter, pendant un temps parfois très long, des doses de venin encore plus élevées (venin de Cobra à

$\frac{1}{2000}$, par exemple) et près de trois cents fois supérieures à la dose minima mortelle. En milieu d'eau redistillée, de telles quantités de venin tuent d'ordinaire les animaux témoins, en moins d'un quart d'heure.

Cette action du calcium, sur les doses fortes de venin, est résumée dans le tableau suivant. Les expériences ont été faites sur la tanche, en utilisant le venin de Cobra.

TABLEAU XIV. -- TANCHES

Titre des solutions de venin	Concentration du milieu en CaCl^2	Durée de la survie des animaux
1 : 20 000	eau redistillée pure	45 minutes
	N : 500	4 heures 50
	N : 200	45 heures
	N : 100	vivant après 48 heures
	N : 50	id.
1 : 10.000	eau redistillée pure	32 minutes
	N : 200	6 heures 30
	N : 100	30 heures
	N : 50	vivant après 48 heures
	N : 25	id.
1 : 2.000	eau redistillée pure	14 minutes
	N : 100	2 heures 50
	N : 50	4 heures 50
	N : 25	5 heures 30

Nous ajouterons que l'action protectrice de CaCl^2 ne lui est point particulière. Tous les sels solubles de calcium, que nous

Ledebt

4

avons étudiés, produisent les mêmes effets. Avec les sels à acide fort, comme les azotates ou les sulfates, on observe même une concordance remarquable dans l'action protectrice des différents sels, utilisés à dosés équimoléculaires. Cette action est donc exclusivement attribuable au métal lui-même, à l'ion Ca, qui joue dans ce phénomène, comme dans toute une série d'autres processus biologiques, un rôle des plus curieux.

Il y avait lieu de se demander si les sels de baryum et de strontium qui, dans de multiples actions physiologiques, peuvent remplacer, plus ou moins efficacement, les sels de calcium, exercent également, lorsqu'ils sont substitués à ce dernier, quelque action protectrice vis-à-vis des venins.

En raison de leur haute toxicité pour les animaux aquatiques, les sels de baryum ne pouvaient être essayés qu'à des concentrations relativement faibles. En comparant les effets de solutions $\frac{N}{1000}$, $\frac{N}{500}$, $\frac{N}{300}$ de $BaCl^2$ et de $CaCl^2$, sur le venin de cobra ou le venin de daboia, on constate que ce sel possède une action antagoniste évidente, quoique notablement inférieure à celle de $CaCl^2$.

Les sels de strontium, infiniment moins toxiques que les sels de baryum, peuvent être employés à des concentrations beaucoup plus élevées. A doses équimoléculaires, $SrCl^2$ se montre d'ailleurs notablement plus actif que $BaCl^2$, vis-à-vis des venins que nous avons expérimentés, quoique son action protectrice soit encore inférieure à celle de $CaCl^2$. Dans la plupart des cas, il a été nécessaire en effet, d'employer des doses doubles ou triples de $SrCl^2$, pour obtenir des effets, en tout comparables, à ceux que produit $CaCl^2$ (tableau XV).

L'expérience suivante, montre précisément l'action de doses équimoléculaires de $SrCl^2$ et $CaCl^2$ sur les tanches, mises en présence d'une solution de venin de cobra à $\frac{1}{50000}$. $BaCl^2$ a été employé dans la même expérience jusqu'à la dose limite où il peut être lui-même supporté, sans inconvénient, par ces poissons c'est-à-dire jusqu'à la concentration $\frac{N}{300}$. Deux animaux témoins sont morts en 1 heure 20 et 1 heure 45.

L'action protectrice, qu'exercent les sels de calcium, vis-à-vis des effets nocifs des venins, sur les animaux aquatiques, ne peut s'expliquer par une destruction ou une neutralisation de ces poisons, dans le milieu extérieur. Nous avons observé, en effet, que le venin de cobra, abandonné pendant plusieurs heures, à la température du laboratoire, en présence de doses, même relativement élevées de CaCl_2 , présente chez le lapin, en injection sous la peau ou dans le péritoine, la même toxicité qu'une solution témoin, faite et conservée, dans l'eau redistillée ou la solution physiologique de NaCl . Nous avons vu d'autre part qu'on ne retarde pas la mort des animaux en leur injectant, soit au préalable, soit en même temps que le venin, des quantités

TABLEAU XV. — TANCHES

Concentration des différents sels	Durée de la survie des animaux		
	BaCl_2	SrCl_2	CaCl_2
N : 1.000	4 heure 35	4 heure 50	5 heures 55
N : 500	1 heure 40	6 heures	vivant après 48 h.
N : 300	environ 24 h.	30 heures	id.
N : 200	—	vivant après 48 h.	id.
N : 100	—	id.	id.
N : 50	—	id.	id.

variables de CaCl_2 . *In vivo* comme *in vitro*, les sels de chaux se montrent donc incapables de neutraliser les effets habituels des venins. Le mécanisme de leur action protectrice, dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placé, relève, par conséquent, d'autres causes, et l'on est amené à penser que c'est en s'opposant à la pénétration du venin, au niveau des téguments et des muqueuses, que les sels de chaux exercent leurs effets antagonistes.

On sait que, chez les poissons, les échanges avec le milieu extérieur, se font pour la plus grande part, tout au moins, au niveau de l'appareil branchial. La disposition particulière de cet appareil, sa très riche vascularisation, la minceur de l'épithélium qui sépare, à ce niveau, le sang de l'animal du milieu dans lequel celui-ci est immergé, rendent facile l'absorption des poisons.

On sait, d'autre part, (voir Chap. I) quelle sensibilité présentent les animaux aquatiques, aux modifications du milieu qui les environne, quand leurs membranes limitantes sont altérées.

Les venins, qui sont des poisons peu diffusibles, ne doivent avoir qu'une assez faible tendance à traverser les membranes vivantes intactes, mais ils possèdent, à des degrés divers, une action cytolitique sur les éléments cellulaires avec lesquels on les met en contact. Si, dans certains cas, cette action ne peut s'exercer que par l'intermédiaire des plasmas, il en est d'autres où elle se manifeste directement sur les éléments totalement séparés des humeurs. Les globules rouges de certaines espèces animales, par exemple, sont directement cytolysés par le venin de Cobra.

En contact immédiat avec l'épithélium branchial, les venins exercent sur celui-ci une action directe et primitive, qu'il est facile d'observer, et qui aboutit à une desquamation parfois très intense de la peau et des muqueuses. Il est vraisemblable que, même, s'il est peu lésé, l'épithélium voit sa perméabilité augmentée à un haut degré vis-à-vis du venin et laisse ce poison pénétrer aisément dans les humeurs.

En modifiant les rapports physico-chimiques des membranes limitantes avec les milieux qui les baignent, les sels de chaux doivent donc, s'opposer, par un mécanisme que nous ignorons, à l'action directe du venin sur ces membranes et secondairement à la pénétration du poison dans l'organisme.

CHAPITRE V

Neutralisation des venins par les sérums antivenimeux. Spécificité d'action des sérums antivenimeux ajoutés aux venins dans le milieu extérieur

On sait, depuis les recherches de CALMETTE (1), de PHISALIX BERTRAND (2), de FRASER (3) etc. que les venins de serpents, inoculés aux mammifères, à doses progressivement croissantes, leur confèrent l'immunité vis-à-vis de ces poisons, en même temps qu'ils font apparaître, dans le sérum sanguin, des substances douées de propriétés antitoxiques : le sérum de l'animal immunisé, injecté à un animal neuf ou à l'homme, se montre capable, en effet, d'empêcher chez ces derniers, les phénomènes habituels de l'envenimation, et la mort qui en est souvent la conséquence.

Nous n'avons pas à insister ici sur ces faits, qui sont à l'origine de la sérothérapie anti-venimeuse, méthode thérapeutique à laquelle restera tout particulièrement attaché le nom de CALMETTE (4), et dont les premières applications remontent déjà à une vingtaine d'années. Nous rappellerons cependant que les nombreuses recherches expérimentales, faites dans la suite, par

1. CALMETTE. *C. R. Soc. Biol.*, 1894, t. X, p. 44.

2. PHISALIX et BERTRAND. *C. R. Acad. Sc.*, 1894, t. CXVIII, p. 288.

3. FRASER. *British. med. Jour.*, 1895, p. 1039.

4. CALMETTE. *Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie anti-venimeuse*. Paris, Masson, 1907.

MARTIN (1), LAMB (2), ROGERS (3), BRAZIL (4), TIDSWELL (5), etc., ont montré que les sérums antivenimeux, comme les autres sérums antitoxiques, et les anticorps en général, sont spécifiques, c'est-à-dire, que leur action neutralisante se limite au venin de l'espèce qui a servi à la préparation de l'antitoxine ou, tout au moins, au venin des espèces immédiatement voisines. Ajoutons que l'étude systématique de divers sérums antivenimeux, faite récemment par ARTHUS (6), a contribué à établir solidement cette donnée, dont l'importance est considérable, non seulement pour la pratique de la sérothérapie, mais encore au point de vue de la biologie générale.

Nous avons à nous demander, si cette action antitoxique des sérums antivenimeux, pouvait être mise en évidence, avec ses caractères de spécificité, dans les conditions expérimentales particulières où nous nous sommes placé pour faire l'étude des venins.

Et d'abord l'antitoxine qui, on le sait, est spécialement fixée à la fraction des globulines du sérum, pourrait-elle manifester son action dans un milieu d'eau distillée, où ces matières albuminoïdes seraient exposées à subir une précipitation partielle ou totale, suivant le degré de dilution du sérum ajouté.

D'autre part, en raison de l'action inhibitrice exercée sur les venins, par les petites doses de chaux ajoutées au milieu extérieur, la chaux du sérum ne suffirait-elle pas, indépendamment de l'antitoxine spécifique, à entraver les effets habituels des venins sur les animaux aquatiques.

Nos premiers essais ont été faits en nous adressant au venin de cobra et au sérum antivenimeux préparé par l'Institut Pasteur de Lille. On sait que ce sérum est obtenu par l'injection

1. MARTIN. *British. med. Jour.*, 1898, II, p. 1805 ; 1904, II, p. 574.

2. LAMB. *Sci. Mem. off. med. sanit. dept. gov. India*, n° 5, 1903.

3. ROGERS. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1903, p. 419.

4. BRAZIL. *Contribution à l'étude de l'intoxication d'origine ophidienne*. Paris, A. Maloine, 1905.

5. TIDSWELL. *Austral. Med. Gaz.*, 1902, t. XXI, p. 177.

6. ARTHUS. *Arch. inter. de Physiol.*, 1910.

exclusive ou presque exclusive de venin de Cobra indien (*Naja tripudians*) aux chevaux qui servent à sa préparation.

Chez les mammifères, ce sérum ne manifeste d'action antitoxique, réellement efficace, qu'à l'égard du venin de Cobra (*Naja tripudians*, *Naja haje*) et des venins de quelques Colubridés voisins. Il est presque inactif sur les venins des Colubridés d'Australie, et il est totalement dépourvu d'action vis-à-vis des venins des Vipéridés, tels que le *Trimeresurus*, le *Daboia*, le *Crotale*, le *Bothrops*, etc. A l'égard du venin de Cobra, son pouvoir antitoxique, évalué chez le lapin ou le cobaye, s'est montré, pour les divers échantillons que nous avons eu à notre disposition, sensiblement égal à celui qui est indiqué par CALMETTE : en règle générale, 1 cc. 5 de sérum suffisait à neutraliser 1 milligramme de venin de Cobra. Pour la simplification du langage, nous désignerons indifféremment à l'avenir, ce sérum sous le nom de sérum de CALMETTE ou de sérum anti-cobra.

Pour étudier l'action, exercée par le sérum de CALMETTE, sur l'intoxication des poissons ou des têtards par le venin de cobra, nous avons opéré de la façon suivante : à l'eau redistillée dans laquelle devaient être introduits les animaux, nous ajoutions des doses variables, mais sûrement mortelles, de venin, et aussitôt après, les quantités de sérum antivenimeux, calculées de façon à obtenir la neutralisation du venin. Dans une autre série de cristallisoirs, on constituait des mélanges identiques aux premiers, mais dans lesquels le sérum antivenimeux était remplacé par du sérum normal correspondant, soit en l'espèce, du sérum de cheval. Le sérum antivenimeux ayant subi, en vue de sa conservation, un chauffage d'une heure à 58°, nous portions, pendant le même temps, le sérum normal, à la même température, de façon à rendre les conditions expérimentales aussi égales que possible. Enfin, dans une troisième série de cristallisoirs, nous ajoutions exclusivement à l'eau redistillée, le venin de cobra, aux diverses doses, employées dans les deux séries précédentes. Les animaux étaient introduits dans les mélanges aussitôt après qu'ils étaient constitués.

Comme le montre très nettement le tableau suivant, il est

facile de mettre en évidence l'action neutralisante du sérum de CALMETTE (sérum anti-cobra) sur le venin de Cobra.

Cette expérience, de même que celles qui suivent, a été faite sur les vairons. La quantité d'eau redistillée employée a été, comme précédemment, de 150 centimètres cubes. Les doses de venin utilisées sont indiquées en milligrammes dans le but de faciliter le calcul du pouvoir neutralisant du sérum. Il suffit de se rappeler que les trois dilutions de venin employées correspondent à des mélanges à $\frac{1}{300.000}$, $\frac{1}{100.000}$ et $\frac{1}{50.000}$.

TABEAU XVI

Doses de venin de Cobra	Quantité de sérum ajouté		Durée de la survie des animaux
	S. normal	S. anticobra	
0 mgr. $\frac{5}{100.000}$	—	—	1 h. 30.
1 mgr. $\frac{5}{100.000}$	—	—	55 minutes.
3 mgr. $\frac{5}{100.000}$	—	—	40 minutes.
0 mgr. $\frac{5}{50.000}$	0 cc. 8	—	1 h. 45.
1 mgr. $\frac{5}{50.000}$	2 cc. 3	—	1 heure.
3 mgr. $\frac{5}{50.000}$	4 cc. 6	—	25 minutes.
0 mgr. $\frac{5}{300.000}$	—	0 cc. 8	Vivant après 48 h.
1 mgr. $\frac{5}{300.000}$	—	2 cc. 3	Id.
1 mgr. $\frac{5}{100.000}$	—	2 cc.	45 heures.
3 mgr. $\frac{5}{100.000}$	—	4 cc. 6	Id.
3 mgr. $\frac{5}{50.000}$	—	3 cc.	35 minutes.

Cette action neutralisante du sérum anti-cobra doit être rapportée, sans aucun doute, à l'antitoxine spécifique. Il ne peut s'agir en effet, aux doses où ce sérum est employé, d'une action inhibitrice des sels de chaux ou de quelque autre sub-

stance banale du sérum, puisque des quantités correspondantes de sérum normal se montrent sans action.

Si on augmente très notablement, dans le milieu, la quantité de sérum normal mise en œuvre, on peut observer, quelquefois, un retard plus ou moins appréciable de l'intoxication, mais, dans aucun cas, les animaux ne sont définitivement protégés.

Ajoutons d'ailleurs que des doses de venin, inférieures à la dose mortelle, peuvent donner, en présence de quantités suffisantes de sérum normal, des mélanges nettement toxiques pour les animaux, alors qu'ajouté seul, et en même quantité, au milieu, le sérum normal est toujours inoffensif.

Ces faits, que nous aurons à développer dans la seconde partie de ce travail, à propos de l'étude des poisons libérés par le venin, montrent en tout cas que, mis en présence du venin de Cobra, le sérum normal et le sérum de CALMETTE se comportent tout différemment, et que l'action neutralisante, exercée par ce dernier, doit être rapportée à l'antitoxine qu'il renferme.

Il est également facile de démontrer, en ayant recours à la même technique expérimentale, que cette antitoxine est spécifique. Si, dans les essais, on substitue au venin de Cobra, d'autres venins, dont la toxicité, pour les poissons et les têtards, est sensiblement égale à celle de ce dernier, on observe que le sérum anti-cobra n'exerce aucune action neutralisante. S'il arrive parfois que l'intoxication soit plus ou moins retardée, on constate aisément qu'un retard sensiblement égal peut être obtenu, en remplaçant simplement le sérum anti-cobra, par du sérum de cheval neuf.

Les essais que nous avons faits à ce sujet, en utilisant le venin de *Trimeresurus* et le venin de *Daboia*, ont été particulièrement nets ; l'expérience ci-dessous (tableau XVII) en fournit un exemple, en quelque sorte schématique.

Il est utile de faire remarquer que, dans le cas du venin de *Daboia*, tout au moins, il est nécessaire pour rendre les expériences tout à fait démonstratives, d'opérer de façon à ne pas

TABEAU XVII

Nature et doses des divers venins utilisés		Quantité de sérum ajouté		Durée de la survie des animaux
		S. normal	S. anticobra	
Cobra.	0 mgr. 5.	—	—	2 heures.
	1 mgr. .	—	—	1 h. 20.
	0 mgr. 5.	0 cc. 8	—	1 h. 50.
	1 mgr. .	4 cc. 5	—	1 h. 35.
	0 mgr. 5.	—	0 cc. 8	Vivant après 48 h.
	1 mgr. .	—	4 cc. 5	Id.
Daboia .	0 mgr. 5.	—	—	2 h. 30.
	1 mgr. .	—	—	1 h. 45.
	0 mgr. 5.	0 cc. 8	—	4 h. 50.
	1 mgr. .	4 cc. 5	—	3 h. 20.
	0 mgr. 5.	—	0 cc. 8	4 h. 30.
	1 mgr. .	—	4 cc. 5	2 h. 50.
Trimere- surus .	1 mgr. 5.	—	—	1 h. 30.
	3 mgr. .	—	—	1 h. 10.
	4 mgr. 5.	2 cc. 5	—	1 h. 50.
	3 mgr. .	4 cc.	—	1 h. 25.
	1 mgr. 5.	—	2 cc. 5	2 h. 15.
	3 mgr. .	—	4 cc.	1 h. 45.

avoir à mettre en œuvre des doses par trop élevées de sérum. Le venin de Daboia, nous l'avons signalé précédemment, est particulièrement sensible à l'action des sels. D'autre part,

comme on le verra plus loin, ses effets sur les animaux aquatiques peuvent être entravés, dans une certaine mesure, par la présence de cholestérine dans le milieu, substance qui se montre sans action sur les venins de Cobra et de *Trimeresurus*. Par les sels, et vraisemblablement surtout par la cholestérine qu'ils apportent avec eux, les sérums normaux ou préparés peuvent, à doses élevées, tout au moins, et en dehors de toute action antitoxique vraie, retarder, voire même empêcher les phénomènes habituels dus au venin de Daboia. C'est là une cause d'erreurs, dont il est bon d'être prévenu, les expériences pouvant entraîner parfois à des conclusions inexactes, si on néglige de comparer, dans une même série, l'action d'un sérum préparé, à celle du sérum normal correspondant.

S'il est insensible à l'action du sérum anti-cobra, le venin de Daboia est, par contre, très facilement neutralisé par le sérum antivenimeux correspondant.

Grâce à l'obligeance de M. CALMETTE, nous avons eu à notre disposition un sérum anti-daboia, préparé par G. LAMB, à l'Institut Pasteur de Kasauli. Ce sérum, dont nous avons évalué, au préalable, le pouvoir antitoxique chez le lapin et le cobaye, datait de sept ans environ. Malgré l'ancienneté de sa préparation, il était resté parfaitement stérile, et avait conservé une très grande activité. Injecté, en mélange avec le venin de Daboia, dans les veines du lapin, il neutralisait complètement à la dose de 0 cc. 2, 1 milligramme de venin, soit environ deux doses mortelles. En quantités infiniment plus élevées (3 cc. par milligramme) il ne manifestait, par contre, chez le même animal, aucun pouvoir neutralisant vis-à-vis des venins de Cobra ou de *Trimeresurus*.

Nous avons obtenu des résultats, en quelque sorte, superposables aux précédents, en étudiant l'action de ce sérum sur l'intoxication déterminée, par divers venins, chez les poissons maintenus en milieu d'eau redistillée.

L'expérience qui suit (tableau XVIII), montre que, dans ces conditions expérimentales, l'action neutralisante du sérum anti-daboia, comme celle du sérum anti-cobra, est nettement spécifi-

TABEAU XVIII

Nature et doses des venins utilisés		Quantité de sérum ajouté		Durée de la survie des animaux
		S. normal	S. anticobra	
Daboia	0 mgr. 5.	—	—	2 h. 45.
	1 mgr.	—	—	1 h. 20.
	0 mgr. 5.	0 cc. 15	—	3 heures.
	1 mgr.	0 cc. 30	—	1 h. 50.
	0 mgr. 5.	—	0 cc. 15	Vivant après 48 h.
	1 mgr.	—	0 cc. 30	Id.
Cobra	0 mgr. 5.	—	—	2 h. 30.
	1 mgr.	—	—	1 h. 40.
	0 mgr. 5.	1 cc. 5	—	1 h. 50.
	1 mgr.	3 cc.	—	1 h. 35.
	0 mgr. 5.	—	1 cc. 5	2 h. 50.
	1 mgr.	—	3 cc.	1 h. 30.
Trimere- surus	1 mgr. 5.	—	—	2 h. 10.
	3 mgr.	—	—	1 h. 40.
	1 mgr. 5.	1 cc. 5	—	1 h. 55.
	3 mgr.	3 cc.	—	1 h. 15.
	1 mgr. 5.	—	1 cc. 5	2 heures.
	3 mgr.	—	3 cc.	55 minutes.

que. Alors, que quelques dixièmes de centimètres cubes de sérum, ajoutés au milieu, suffisent pour supprimer complètement les effets de plusieurs doses mortelles de venin de Daboia, des

quantités, cinq et même dix fois plus fortes, sont tout à fait inefficaces vis-à-vis des venins de Cobra ou de *Trimeresurus*.

La série des expériences, que nous venons de rapporter, montre qu'il est facile de mettre en évidence, par la méthode d'étude très simple que nous avons utilisée, l'action antitoxique des sérums antivenimeux, et de démontrer le caractère nettement spécifique de cette action. Rapprochées des observations, que nous avons relatées dans le chapitre précédent, sur le rôle antagoniste des sels, ces expériences prennent un intérêt tout particulier.

L'action des sels, et spécialement l'action des sels de calcium, si intéressante qu'elle soit, est en quelque sorte, une action banale. Elle s'exerce indifféremment en effet, sur tous les venins, et ne se montre que dans les conditions expérimentales très particulières que nous avons choisies. D'autre part, cette action ne résulte pas, à proprement parler, d'une neutralisation des venins, mais s'explique par l'obstacle, que certains sels peuvent apporter, à la diffusion et la pénétration de ces poisons dans le milieu intérieur.

L'action des antitoxines, substances non encore définies, formées par l'organisme au cours de l'immunisation, se présente au contraire avec tous les caractères de la spécificité. Cette action consiste essentiellement en une neutralisation véritable des venins par les sérums préparés, neutralisation qui peut se faire tout aussi bien dans le milieu extérieur, qu'au sein de l'organisme.

Nous verrons, dans la suite de cet exposé, qu'il était pour nous de quelque utilité d'insister sur ces faits ; nous aurons maintes fois l'occasion d'y faire appel.

CHAPITRE VI

Action de la cholestérine sur l'intoxication des animaux aquatiques par les venins

Nous montrerons, dans la seconde partie de ce travail, que la cholestérine possède la remarquable propriété de neutraliser l'action d'un produit toxique, chimiquement défini, formé par les venins, aux dépens de certains matériaux empruntés à l'organisme.

Pour définir et préciser nettement ce rôle de la cholestérine, il était utile d'examiner, au préalable, l'action de cette substance sur les venins eux-mêmes, en se plaçant dans les conditions expérimentales particulières que nous avons choisies pour en faire l'étude.

Cette recherche présentait d'ailleurs un autre intérêt. On sait, en effet, que la cholestérine a été considérée comme un agent capable d'empêcher, dans une certaine mesure, l'intoxication des mammifères par le venin ; on se rappelle, en outre qu'il est nettement établi que cette substance est capable de jouer *in vitro* un rôle inhibiteur, des plus curieux, dans certains processus hémolytiques déterminés par les venins.

PHISALIX (1) a soutenu que la cholestérine, injectée aux animaux, se comporte vis-à-vis du venin de vipère comme un véritable « vaccin chimique ». Il a affirmé, en outre, que « son pouvoir antitoxique est manifeste, et assez puissant pour

1. PHISALIX. *C. R. Acad. Sc.*, 1897, t. CXXV, p. 4053.

s'exercer encore cinq à dix minutes après l'inoculation du venin ».

Mais il y a lieu de faire remarquer que les actions protectrices, signalées par PHISALIX, n'ont été observées que sur des animaux (cobayes) injectés d'une simple dose mortelle de venin. Or, de très nombreuses substances ont donné à PHISALIX lui-même des résultats analogues, bien qu'aucune d'elles ne fut capable, même lorsqu'elle était introduite dans l'organisme en quantité beaucoup plus forte, de protéger les animaux contre des doses de venin sensiblement plus élevées. Ajoutons que CALMETTE n'a pu observer, en utilisant le venin de Cobra, le moindre retard dans l'intoxication, chez les animaux injectés de cholestérine, et que nous n'avons eu, nous-même, dans quelques expériences, faites avec M. DELEZENNE, que des résultats négatifs.

Si la cholestérine paraît incapable d'empêcher, d'une façon réellement efficace, les phénomènes d'envenimation chez les mammifères, elle n'en possède pas moins, comme l'ont montré KYES et SACHS (1), le pouvoir d'empêcher la destruction, *in vitro*, des globules rouges, par le mélange de venin et de lécitine.

Nous aurons à examiner plus loin si cette action de la cholestérine sur l'hémolyse par les venins, action confirmée par de nombreux observateurs, tient, comme on l'a soutenu, à une action antagoniste et directe de cette substance sur les venins eux-mêmes ou à tout autre processus ; qu'il nous suffise de faire remarquer, pour l'instant, qu'en étudiant l'action exercée par la cholestérine sur l'intoxication des animaux aquatiques par les venins, nous nous rapprochons, en apparence tout au moins, des conditions expérimentales où la cholestérine se montre réellement efficace.

En raison de son insolubilité dans l'eau, la cholestérine ne peut être utilisée qu'en émulsion. Dans les expériences relatives à l'hémolyse, on a l'habitude de préparer les émulsions en partant d'une solution concentrée de cholestérine dans l'alcool, que l'on étend d'un assez grand volume d'eau.

1. KYES et SACHS. *Berl. Klin. Woch.*, 1902, t. XXXIX, pp. 896 et 918.

Grâce à l'alcool, contenu dans le mélange, la cholestérine reste en suspension fixe et peut, dans ces conditions, manifester assez aisément ses propriétés empêchantes. Ces émulsions, dont la stabilité n'est que relative, offrent en outre l'inconvénient d'introduire dans le milieu un corps qui, même en faible quantité peut, par sa seule présence, changer les conditions de diffusion et d'absorption du venin.

Pour éviter toute cause d'erreur à ce sujet, nous avons préparé nos émulsions de la façon suivante : La cholestérine est dissoute en solution à 2 ou 3 0/0 dans l'acétone. La solution acétonique est projetée lentement et en très fines gouttes dans de l'eau distillée, maintenue au bain-marie bouillant, en ayant soin d'agiter constamment. L'acétone s'évapore instantanément à cette température, et on obtient, après refroidissement et filtration sur papier, des émulsions tout à fait stables, dont on évalue la richesse en cholestérine par dessiccation et pesée.

Les émulsions de cholestérine, ainsi préparées, ont été étudiées, au point de vue de leur action empêchante, sur trois venins différents : Cobra, Trimeresurus et Daboia. Les expériences étaient faites en suivant exactement la technique précédemment décrite.

En addition à l'eau redistillée, la cholestérine seule, aux doses déjà relativement fortes où nous l'avons employée, n'influence pas d'une façon sensible la vitalité des vairons ou des têtards, puisque nous avons pu, sans exception, conserver ces animaux dans un tel milieu, pendant plus de quarante-huit heures. Ajoutée au venin de Cobra ou au venin de Trimeresurus, la cholestérine ne modifie pas la toxicité de ces venins pour les vairons ou les têtards. Vis-à-vis de doses deux, trois ou quatre fois mortelles, de venin, des quantités variables de cholestérine, mais qui pouvaient atteindre plus de 12 fois le poids du venin employé, sont restées sans effet. Tout au plus avons-nous observé, dans quelques cas, un retard minime de l'intoxication, fait qui est vraisemblablement à rapprocher de ceux que l'on observe assez souvent lors de l'addition au milieu, d'une substance banale, à l'état particulière (poudres ou précipités insolubles, etc.) capable, en raison de son état physique, de fixer temporairement le venin.

Quoi qu'il en soit, les deux expériences ci-dessous, faites sur les vairons, (Tableau XIX), suffiront à démontrer, qu'en fait, la

cholestérine n'exerce aucune action neutralisante vis-à-vis des venins de Cobra ou de Trimeresurus.

TABLEAU XIX

Nature et doses des venins utilisés	Quantité de cholestérine ajoutée	Durée de survie des animaux
Cobra . 1 mgr. 5 . . . 3 mgr. . . . 4 mgr. 5 . . . 3 mgr. . . . 3 mgr. . . .	— — 10 mgr. 20 mgr. 40 mgr.	40 minutes. 25 minutes. 50 minutes. 45 minutes. 1 h. 30.
Trimere- surus . 4 mgr. 5 . . . 3 mgr. . . . 4 mgr. 5 . . . 3 mgr. . . . 3 mgr. . . .	— — 10 mgr. 20 mgr. 40 mgr.	2 h. 10. 1 h. 25. 2 heures. 1 h. 40. 2 h. 20.

Bien qu'elle soit sans action sur les venins de Cobra et de Trimeresurus, la cholestérine peut neutraliser, dans une certaine mesure tout au moins, les effets toxiques de quelques autres venins sur les poissons et les têtards. Cette action neutralisante semble surtout évidente lorsqu'on s'adresse au venin de Daboia. Elle est moins nette, voire même douteuse, quand on utilise les venins de Bothrops ou de Crotale. Il est à noter, d'ailleurs, que même à l'égard du venin de Daboia, qui se montre de beaucoup le plus sensible à son action, la cholestérine ne donne des résultats certains, qu'à la condition d'être ajoutée au milieu

en assez forte quantité. C'est ce qu'indique nettement l'expérience suivante (tableau XX) dans laquelle nous avons également utilisé les vairons.

TABLEAU XX

Doses de venin de Daboia utilisés	Quantité de cholestérine ajoutée	Durée de la survie des animaux
1 milligr.	—	45 minutes.
Id.	5 mgr.	1 h. 20.
Id.	10 mgr.	6 h. 50.
Id.	20 mgr.	24 heures
Id.	40 mgr.	30 heures.

Il résulte de cet ensemble de faits que, si on excepte le venin de Daboia, vis-à-vis duquel elle peut manifester à doses très forte des effets antagonistes, la cholestérine ne possède pas, à proprement parler, dans les conditions précises de nos expériences, d'action neutralisante directe à l'égard des venins que nous avons étudiés.

Nous croyons inutile d'insister davantage pour l'instant sur cette donnée. On verra, dans la suite de nos recherches, l'importance qu'il y a lieu d'y attacher.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE VII

Les poisons engendrés par les venins.

Introduction à l'étude de leur action sur les vertébrés aquatiques (1)

I. — CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Malgré les nombreux travaux publiés sur cette question, le mécanisme de l'action physiologique des venins est encore loin d'être élucidé.

L'étude des phénomènes, auxquels donne lieu la pénétration de ces agents dans l'organisme, est restée, en quelque sorte, purement symptomatique, et, sauf pour quelques-uns, nous ignorons, tout à la fois, la cause réelle de ces phénomènes, et la série des processus qui les déterminent. Les venins et les toxines microbiennes ont été, le plus souvent, considérés comme des poisons directs de la cellule, capables d'altérer son protoplasme, en vertu d'affinités chimiques particulières, qu'ils possèdent pour quelques-uns de ses constituants. C'est la conception qu'a défendue EHRICH et son école, et qui a régné, pour ainsi dire, en maîtresse, au cours de ces vingt dernières années. On savait cependant, que les venins et les toxines se distinguent, par une série de caractères fondamentaux, de poisons, également très actifs, mais chimiquement définis, tels que les alcaloïdes ou les glucosides, par exemple.

1. Nous avons utilisé en grande partie, dans ce chapitre, la rédaction d'un mémoire que nous nous proposons, M. DELEZENNE et moi, de publier en commun, très prochainement.

À l'inverse de ces derniers, les venins, comme les toxines microbiennes et les diastases, peuvent donner naissance, par des processus d'immunisation, à des anticorps capables de neutraliser totalement leurs effets. S'ils sont moins labiles que la plupart des diastases, les venins sont cependant sensibles à la chaleur, sensibles à la lumière et en général aux agents physico-chimiques, qui altèrent aisément ou détruisent les ferments solubles. Comme ces derniers, ils peuvent agir à doses infinitésimales, comme eux encore ils sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool, peu dialysables, et facilement entraînés par les précipités floconneux, minéraux ou protéiques (phosphate de chaux, globuline, etc.), que l'on produit au sein des liquides où ils sont dissous. Rien de surprenant, à ce qu'en raison de ces propriétés, les venins aient été souvent rapprochés des diastases. Ajoutons d'ailleurs qu'il a été possible de mettre en évidence, dans diverses sécrétions venimeuses, des ferments solubles, nettement caractérisés, capables, par exemple, de dissoudre la gélatine, la fibrine ou la caséine (FLEXNER et NOGUCHI (1), C. DELEZENNE (2), L. LAUNOY (3), NOC (4), etc.), d'attaquer faiblement certaines matières grasses (NEUBERG et ROSENBERG (5), de coaguler le lait (LACERDA (6), C. DELEZENNE (7)), de kinaser le suc pancréatique inactif (C. DELEZENNE (8).

Si on ne pouvait songer à attribuer à ces diastases, en quelque sorte banales — et que l'on rencontre dans nombre de liquides organiques inoffensifs — les phénomènes toxiques qui se développent chez les animaux, à la suite de l'inoculation des venins (9),

1. FLEXNER et NOGUCHI. *Univ. of Penns. Med. Bull.*, 1902, t. XV, p. 343.

2. C. DELEZENNE. *C. R. Acad. des Sc.*, 1902, t. CXXXV, p. 329.

3. L. LAUNOY. *C. R. Acad. des Sc.*, 1902, t. CXXXV, p. 401.

4. NOC. *Ann. Inst. Pasteur*, 1904, t. XVIII, p. 387.

5. NEUBERG et ROSENBERG. *Berlin. Klin. Woch.*, 1907, t. XLIV, p. 54.

6. LACERDA. *Leçons sur le venin des serpents du Brésil*, 1884.

7. C. DELEZENNE. *Lect. Acad. Méd. in Presse Méd.*, 1910.

8. C. DELEZENNE. *C. R. Acad. des Sc.*, 1902, t. CXXXV, p. 329.

9. De nombreux venins injectés directement dans les veines, tuent les animaux par coagulation intravasculaire généralisée. Ce phénomène paraît devoir être attribué, le plus souvent, à une action diastasique des venins. Certains d'entre eux peuvent coaguler très énergiquement, en effet, les plas-

il était permis de penser, qu'à côté de ces ferments solubles, il en existe d'autres, capables de transformer, dans l'organisme lui-même, certains constituants du protoplasme ou des humeurs, en produits directement toxiques pour les éléments cellulaires.

Jusque dans ces derniers temps, cette conception, si logique qu'elle fut, mais qui ne reposait, à la vérité, sur aucune donnée positive indiscutable, n'avait pas trouvé grand crédit auprès des biologistes. Tout en concédant que toxines et venins méritent d'être rapprochés des diastases ou enzymes, la plupart des observateurs les en avaient séparés, pour en faire une classe de substances spéciales, imparfaitement définies, souvent rangées sous les vocables de toxalbumines, de toxabulmoses de toxoprotéines, etc., et pour lesquelles ARTHUS (1), en raison de leur parenté évidente avec les enzymes, avait proposé la dénomination générale d'*enzymoïdes*. « Il convient, en effet, écrit cet auteur, de séparer nettement les enzymoïdes des enzymes vraies, ces dernières produisant des transformations chimiques incontestables, tandis que l'essence du phénomène produit par les enzymoïdes nous est imparfaitement connue ou totalement inconnue ». « Les phénomènes produits par les toxalbumines, écrit encore le même auteur, sont des phénomènes physiologiques, et nous ignorons absolument si ces phénomènes physiologiques sont la conséquence de phénomènes chimiques, produit par la toxalbumine. En supposant même que la toxalbumine agisse bien chimiquement, nous ignorerions la nature et la quantité de la substance transformée par elle dans l'organisme, et nous ne pourrions en conséquence appliquer aux toxalbumines la loi fondamentale de l'action des diastases, à savoir qu'elles agissent en quantité infiniment petite pour produire des transformations chimiques infiniment grandes ».

mas *in vitro* (Lamb., Noc. Arthus, etc.), et dans ce cas, on admet qu'ils agissent, soit par l'intermédiaire d'un véritable fibrinferment (Martin, Arthus), soit par l'intermédiaire d'une substance assimilable à la thrombo-kinase des tissus (Mellanby).

1. M. ARTHUS. *Précis de Chimie physiologique*, Paris, Masson, 1908.

Si, dans l'état de nos connaissances, ces réserves étaient pleinement justifiées, il était, toutefois, excessif d'affirmer que les phénomènes toxiques, dus au venin, ne pouvaient pas, dans certains cas tout au moins, être rapportés aux propriétés catalytiques de ces derniers.

Dans son ouvrage récent et si documenté, sur les venins des serpents, NOGUCHI (1) conclut « que le venin des serpents contient un groupe d'agents toxiques entièrement différents des ferments des autres glandes ». « Il semble tout à fait certain, écrit-il, que les effets neurotoxiques, hémolytiques, agglutinants, des venins ne sont pas dus à l'action de ferments protéolytiques. Les ferments lipolytiques peuvent paraître, à quelques égards, avoir affaire avec les actions hémolytiques et agglutinantes des venins, mais vu leur faible pouvoir de dédoubler la lécithine ou les graisses neutres, ils ne peuvent pas être les principes auxquels il faut attribuer l'hémolyse considérable que produisent certains venins ».

Si nous avons tenu à reproduire textuellement cette opinion catégorique de NOGUCHI, c'est que nous pouvons précisément lui opposer aujourd'hui des données expérimentales, qui établissent sans conteste, que l'hémolyse, produite par les venins, relève d'un processus diastasique, ou plus explicitement, d'une action lipolytique de ces poisons. Les recherches, que nous avons poursuivies depuis plusieurs années sur cette question, en collaboration avec M. DELEZENNE, ont montré d'ailleurs que les venins peuvent, en vertu de leurs propriétés catalytiques, libérer, aux dépens de certains matériaux de l'organisme, outre des substances directement nocives pour les hématies, des produits distincts des précédents, et qui sont éminemment toxiques pour les animaux.

Comme nous aurons à appliquer ces données nouvelles, aux recherches spéciales qui font l'objet de notre travail, il est indispensable, pour la compréhension de ce qui suivra, de résu-

1. H. NOGUCHI. *Snake Venoms*. 1 vol, 315 p.. Washington (Carnegie Institution), 1909.

mer dans leur ensemble les faits essentiels sur lesquels elles s'appuient. Pour être complet, nous ferons précéder cet exposé d'un rapide aperçu historique de la question qui nous intéresse le plus spécialement, celle de l'hémolyse par les venins.

II. — L'HÉMOLYSE PROVOQUÉE PAR LES VENINS. — ACTION CATALYTIQUE DES VENINS SUR LE SÉRUM ET LE VITELLUS DE L'ŒUF.

A. *Aperçu historique.* — On sait depuis longtemps que les venins de serpents sont capables de déterminer, chez l'homme ou chez les animaux, des altérations plus ou moins intenses des globules rouges, se caractérisant par le passage de l'hémoglobine dans le plasma et son élimination par les urines.

STEPHENS et MYERS (1) ont étudié systématiquement, les premiers, l'action des venins sur le sang *in vitro*, et fixé quelques-unes des conditions de la destruction globulaire, en utilisant tout spécialement le venin de Cobra. Ils ont montré que l'hémolyse par le venin de Cobra peut être empêchée, *in vitro*, par le sérum antivenimeux spécifique.

FLEXNER et NOGUCHI (2) ont établi, après eux, que les globules rouges, centrifugés, soigneusement lavés puis mis en suspension dans l'eau physiologique, ne sont plus hémolysés par les venins, mais qu'il suffit d'ajouter, au milieu, une trace de sérum sanguin pour obtenir la destruction rapide et complète des hématies (3). Ils ont conclu, de ces expériences, que l'action hémolytique attribuée jusque-là aux venins eux-mêmes, nécessite en fait la coopération de deux substances isolément inactives, l'une dérivant du venin et assimilable, dans la conception

1. STEPHENS et MYERS. *Journ. of Path and Bact.*, 1898, t. V, p. 279. Voir également STEPHENS. Même journal, 1899, t. VI, p. 273

2. FLEXNER et NOGUCHI. *Journ. of experim. Med.*, 1902, t. VI, p. 277 et *Univ. of Penn. Med. Bull.*, 1901-1902, t. XIV, p. 438.

(3) On a montré depuis (Kyes et Sachs) qu'il existe cependant quelques espèces globulaires (chien, cobaye) qui peuvent être attaquées directement par le venin. — On sait en outre qu'il s'agit dans ce cas, d'une attaque de la lécithine endoglobulaire par le venin.

d'ERHLICH, aux ambocepteurs des sérums préparés (sensibilisatrice de BORDET), l'autre contenue dans le sérum sanguin et qui joue, vis-à-vis de la première, le même rôle que le complément (alexine de BORDET).

A la suite d'une importante observation de CALMETTE (1), qui constata que l'action complémentaire des venins — à l'encontre de ce qui se passe pour les compléments ordinaires — n'est pas supprimée par une température supérieure à 62°, P. KYES (2), reprenant l'étude de cette question dans le laboratoire d'ERHLICH, montra, dans une série d'expériences très suggestives, (dont quelques-unes furent publiées avec SACHS) que la substance active du sérum, qui se comporte, vis-à-vis du venin, comme un complément, devait être la lécithine. Par des expériences directes, il établissait d'ailleurs que les lécithines commerciales de diverses origines (lécithine de MERCK, afga-lécithine, etc.), peuvent être substituées au sérum et exercer, vis-à-vis du venin, la même action complémentaire que ce liquide.

En accord avec les idées régnant alors dans le laboratoire d'ERHLICH, P. KYES admit que la lécithine s'unit à un principe du venin pour lequel elle est douée d'une réelle affinité chimique, et forme avec lui un corps nouveau, qui est la véritable hémolysine.

Démontrer, que ce corps est une entité chimique que l'on peut isoler et caractériser, avait, pour l'école d'ERHLICH, une importance considérable. C'était apporter, en quelque sorte, la preuve objective de l'exactitude de la théorie chimique de l'immunité, théorie défendue depuis longtemps par l'éminent biologiste de Francfort, et alors vivement battue en brèche par les défenseurs des conceptions physiques ou physico-chimiques, et en particulier par BORDET. En s'appuyant sur des expériences qui eurent, à l'époque où elles furent publiées, un grand retentissement, P. KYES crut avoir apporté cette démonstration.

En agitant une solution aqueuse de venin de Cobra avec une

1. CALMETTE. *C. R. Acad. des Sc.*, 1902, t. CXXXIV, p. 1446.

2. P. KYES. *Berl. Klin. Woch.*, 1902, t. XXXIX, p. 888; *ibid.*, (avec SACHS), 1903, t. XL, p. 21 et p. 57; *ibid.*, 1903, t. XL, pp. 936 et 982.

solution chloroformique de lécithine, KYES réussit en effet à séparer du mélange, une substance blanchâtre, douée d'une activité hémolytique considérable, différant à la fois de la lécithine, par sa solubilité dans l'eau et son insolubilité dans l'éther, et du venin, par sa solubilité dans l'alcool. A cette substance, qui ne perdait pas ses propriétés par un chauffage à 100°, n'était pas neutralisée par le sérum antivenimeux, mais trouvait un antagoniste puissant dans la cholestérine, KYES donna le nom de *cobra-lécithide*, marquant par là l'analogie qui existait, d'après lui, entre ce composé et les produits déjà qualifiés antérieurement du nom de lécithides, et que LIEBERMAN et d'autres considéraient également comme des combinaisons d'albumine et de lécithine (lécithalbumines), d'hydrate de carbones et de lécithine (lécithglucoses).

Des arguments principaux fournis, soit à l'origine, soit un peu plus tard, par KYES, en faveur de son opinion, nous ne retiendrons que les suivants : 1° les propriétés physiques (solubilité, résistance à la chaleur, etc.), du lécithide sont différentes de celles de chacun de ses constituants considérés isolément ; — 2° dans les liquides où est apparu le lécithide, la fraction hémolytante du venin a disparu alors qu'il reste la fraction neurotoxique ; — 3° le cobra-lécithide, injecté aux animaux, donne naissance à un anticorps capable de neutraliser, à la fois, et le lécithide originel et le venin lui même ; — 4° la détermination du poids moléculaire montre que le lécithide est un corps infiniment plus complexe que la lécithine d'où il dérive : le chiffre trouvé oscille entre 2.000 et 3.000 alors que le poids moléculaire de la lécithine ne dépasse pas 800.

Cette opinion ne fut pas admise sans conteste. LÜDECKE (1), élève de WILLSTAETTER, qui fit, à la demande d'EHRICH, l'analyse du cobra-lécithide, montra en effet que : 1° la formation de cette substance s'accompagne d'une élimination d'acide oléique, 2° que les chiffres de Ph et d'Az, fournis par l'analyse, correspondent plutôt à ceux d'une lécithine monopalmitique

1. LÜDECKE. *Dissertation* Munich, 1905.

ou monostéarique, qu'à une combinaison de la lécithine et du venin.

Sans être absolument affirmatif, LÜDECKE émit cependant l'opinion que le cobra-lécithide est un dérivé de la lécithine ne renfermant pas de venin, une désoléolécithine due, peut-être, à une action diastasique du venin. Cette hypothèse d'une simple action diastasique du venin fut acceptée et soutenue dans la suite par DUNGERN et COCA (1) puis par MANWARING (2). Ces auteurs, à la vérité, s'efforcèrent, par divers artifices d'expériences, de démontrer que le venin ne participe pas à la constitution du lécithide, mais les uns et les autres, opérant toujours suivant la technique de KYES, c'est-à-dire en milieu hydro-chloroformique, et en présence de grandes quantités de venin, n'apportèrent aucun argument démonstratif en faveur de la conception d'une action diastasique.

Pour affirmer qu'il en fut ainsi, il fallait d'une part, isoler le produit formé et le caractériser d'une façon certaine chimiquement, et montrer d'autre part, ce qui est une condition essentielle de toute action catalytique, que de très petites quantités de venin peuvent, avec le temps, transformer par leur seule présence des quantités presque indéfinies de lécithine.

Rien de surprenant à ce que certains auteurs aient pu juger sévèrement les affirmations de MANWARING. « Les preuves données par MANWARING et SACHS, de la nature fermentaire du venin écrit BANG (3) sont sans aucune valeur ». Ajoutons d'ailleurs que, pour BANG (4), le point de départ des expériences de KYES, est inexact. Reprenant les expériences de KYES et SACHS, en partant de la lécithine pure, cet auteur ne put mettre en évidence, l'action complémentaire de cette substance vis-à-vis du venin, tandis qu'il trouva, au contraire, dans les lécithines commerciales, et sans aucune intervention du venin, des substances jouissant des mêmes propriétés que l'hémolysine. Pour lui, et

1. DUNGERN et COCA. *Biochem. Zeitsch.*, t. XII, p. 409, 1908.

2. MANWARING. *Zeitsch. f. Imm. Forsch.*, 1910, t. I, p. 513.

3. BANG. *Zeitsch. f. Imm. Forsch.*, t. VIII, 1910, p.

4. BANG *Bioch. Zeitsch.*, t. XI, p. 521, 1908.

cette opinion fut également défendue par ARRHENIUS (1), le cobra-lécithide, dans le sens que lui donne KYES, n'existe pas.

Ce rapide aperçu montre que, jusque dans ces derniers temps, aussi bien en ce qui concerne le rôle de la lécithine dans l'hémolyse par les venins, qu'en ce qui a trait à l'action catalytique de ces agents, la plus grande incertitude régnait dans les esprits. Qu'on eût en vue une simple question de fait, ou que l'on s'arrêtât à une théorie, aucune expérience n'était capable d'entraîner définitivement une conviction.

On verra dans ce qui va suivre que toute une série de faits nouveaux, mis en évidence successivement par M. DELEZENNE et par nous, par MM. DELEZENNE et E. FOURNEAU, permettent d'apporter aujourd'hui une solution satisfaisante de cette question d'un si grand intérêt pour la biologie générale.

De ces faits, qui ont été déjà publiés sous forme de notes ou de mémoires dans divers recueils, nous n'exposerons que les grandes lignes, en y ajoutant les seuls détails nécessaires à la compréhension des expériences inédites qui seront rapportées dans les chapitres suivants.

B. *Action des venins sur le sérum de cheval. Les phases successives de cette action* (2). — Les auteurs qui avaient étudié, avant nous, le rôle respectif du venin et du sérum dans la destruction des globules rouges, n'avaient jamais utilisé, pour cette recherche, d'autre technique expérimentale que la technique très simple, communément employée dans les expériences d'hémolyse, et qui consiste à ajouter d'emblée, aux émulsions globulaires, préalablement lavées, la substance ou le groupe de substances dont on veut étudier l'action.

Si cette méthode suffisait à montrer que le venin et le sérum ont, l'un vis-à-vis de l'autre, un rôle complémentaire, dans le phénomène de l'hémolyse, elle était incapable de nous renseigner sur la nature du processus, qui se déroule dans les mélanges, et dont le seul résultat visible est la destruction globu-

1 ARRHENIUS. *Bioch. Zeitsch.*, t. XI, p. 141, 1908.

2. C. DELEZENNE et S. LEDEBT. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLII, 1911, p. 790.

laire. En présence des hématies, en effet, le venin cesse rapidement de réagir sur le sérum, et les petites doses restent inefficaces ; aussi n'est-il pas surprenant que les observateurs qui nous ont précédé, n'aient pas été frappés par l'allure particulière que présente le phénomène, lorsqu'on fait varier les quantités respectives de chacun des éléments actifs

Les choses se passent tout différemment, et l'allure du phénomène apparaît avec une netteté singulière, lorsqu'on utilise la méthode d'étude que nous avons choisie, et qui consiste essentiellement à abandonner à eux-mêmes, les mélanges de venin et de sérum avant de les porter au contact des globules.

Les expériences types ont été faites en utilisant le venin de Cobra et le sérum de cheval, mais nous avons observé des résultats identiques, en substituant au sérum de cheval, le sérum de chien, et au venin de Cobra, toute une série d'autres venins de serpents (Daboia, Trimeresurus, Céraste, etc.)

Le sérum, additionné de quantités variables de venin de Cobra — quantités oscillant entre 1 milligr. et 0 milligr. 0001 par centimètre cube de sérum — était abandonné, pendant des temps variables, à la température du laboratoire (20°) ou à celle de l'étuve (40°). L'activité des mélanges, évaluée au point de départ, était mesurée régulièrement dans la suite, jusqu'à ce qu'un état d'équilibre fut atteint. Pour cela on portait des quantités, soigneusement mesurées, sur 1 centimètre cube d'émulsion globulaire (globules de cheval, de mouton ou de bœuf) maintenue à la température de 18°-20°.

Quand l'expérience est ainsi disposée, on observe la succession curieuse des faits suivants :

a) Dans des limites extrêmement étendues, quelle que soit la dose de venin employée, les mélanges acquièrent toujours à un moment donné (période d'activité maximale) un pouvoir hémolytique très intense, et d'intensité sensiblement égale pour les mélanges faibles et pour les mélanges forts.

Le maximum ne dépend que de la quantité de sérum ; il est indépendant de la quantité de venin, celle-ci pouvant être 100

200 et même 500 fois plus faible que la dose limite nettement efficace, dans les expériences du type habituel, c'est-à-dire quand les mélanges sont faits en présence des globules. Ce maximum est atteint, d'autant plus rapidement, que la quantité de venin est elle-même plus forte, et la température plus proche d'un optimum.

Il ressort déjà, de ces expériences, que le venin doit agir comme un ferment qui libère, en quelque sorte, la substance hémolytique du sérum, et que l'action de ce ferment est limitée par la présence des globules.

La substance active, formée sous l'influence du venin, peut être extraite du sérum traité ; elle est soluble dans l'eau et dans l'alcool, insoluble dans l'éther ; elle résiste à la température d'ébullition, et n'est pas neutralisée par le sérum antivenimeux. Cette substance est un dérivé des phosphatides qui disparaissent du sérum au cours de la réaction, elle doit avoir, vraisemblablement, la même constitution que la lysocithine, isolée du vitellus de l'œuf traité par le venin (voir plus loin), mais elle n'a pas encore été complètement caractérisée chimiquement. Ce qu'il est possible d'affirmer, c'est que le venin n'entre pas dans la constitution de cette substance. A la fin de la réaction, il peut être isolé, en effet, du mélange, et provoquer, s'il est placé dans les conditions premières, c'est-à-dire en présence d'une nouvelle quantité de sérum, une nouvelle réaction identique à la précédente.

b) Le pouvoir hémolytique des mélanges venin-sérum, après avoir passé par un maximum, s'atténue progressivement et finit par disparaître.

Cette inactivation est également le résultat d'une action diastatique exercée par le venin : 1° en effet, si l'on ajoute aux mélanges, à la période d'activité maximale, une quantité de sérum antivenimeux, exactement calculée pour obtenir la neutralisation de la dose de venin primitivement introduite, on constate que ces mélanges conservent intactes les propriétés premières qu'ils ont acquises. Seul, le sérum spécifique peut produire cette action d'arrêt, de telle sorte qu'on observe ce

phénomène, en apparence paradoxal : le sérum antivenimeux est l'unique agent, capable de conserver à un mélange hémolytique venin-sérum, ses propriétés toxiques pour les globules ; 2° Quand la réaction est terminée on peut, comme à la fin de la première phase, séparer les produits formés et en faire l'étude. La chose est d'autant plus aisée, qu'une partie de ces produits se sépare spontanément du liquide, au cours de l'inactivation, sous la forme d'un précipité (globoïdes biréfringents donnant la croix de polarisation) qui, soumis à l'analyse, s'est montré constitué presque exclusivement par du savon calcique. Dans le cas du sérum de cheval, MM. DELEZENNE et FOURNEAU ont constaté que ce savon était du stéarate de calcium combiné ou mélangé à une faible quantité d'une substance phosphorée.

L'étude attentive des phénomènes, qui se déroulent dans cette seconde phase de l'action du venin sur le sérum, a montré que, le venin après avoir libéré l'hémolysine aux dépens des phosphatides, la dédouble, et met en liberté l'acide gras qu'elle renferme. C'est cet acide gras, qui, en se combinant à la chaux du sérum, donne précisément les savons calciques qui sont un des produits ultimes de la réaction.

Dans cette seconde phase, la chaux du sérum paraît intervenir quantitativement, sous une forme qui n'a pas encore été parfaitement définie. L'inactivation des mélanges, ne se produit plus, en effet, quand la chaux a été supprimée du milieu, soit par précipitation, soit par dialyse, mais on restitue, au venin, la propriété d'inactiver le mélange, et de dédoubler l'hémolysine en ajoutant au sérum décalcifié, un liquide de dialyse naturelle du plasma sanguin tel que le liquide céphalo-rachidien (MESTREZAT) ou l'humeur aqueuse.

c) Les mélanges, devenus totalement inactifs, sont capables de manifester une action empêchante des plus nettes sur divers processus hémolytiques, déterminés par le venin. A doses relativement faibles, ils empêchent l'hémolyse des espèces globulaires directement sensibles au venin, et ils neutralisent l'action hémolytique si intense du couple lécithine-venin.

Cette action empêchante qui peut, dans certains cas ; être

aussi intense que celle du sérum antivenimeux, disparaît complètement, quand le mélange a été porté à la température de 75°-80.

Malgré leurs propriétés empêchantes, les mélanges venins-sérum, qui ont terminé leur évolution, ont conservé intact, cependant, le venin qui y a été ajouté primitivement, puisqu'ils peuvent être, en quelque sorte, réactivés par une simple addition de sérum neuf. En fait, il ne s'agit pas, à proprement parler, d'une réactivation, mais d'une nouvelle action du venin sur le sérum surajouté. Le venin, contenu dans les mélanges, et qui a conservé intégralement ses propriétés diastasiques, recommence, en effet, sur le sérum surajouté, toute la série des transformations que nous venons de passer en revue, et, si la quantité de venin, mise en œuvre à l'origine, n'a pas été trop faible, le même processus peut être reproduit, un grand nombre de fois, par des additions nouvelles et successives de sérum.

Cette expérience, très suggestive, ne permet pas de douter que la série des transformations, qui s'opèrent dans le sérum, soumis à l'action des venins de serpents, relève de processus catalytiques. En fait — et les expériences, que nous résumerons plus loin, le montreront mieux encore — l'action du venin sur le sérum, est due à l'intervention d'un ferment des phosphatides, qui libère, aux dépens de ces substances, un produit éminemment toxique pour les globules rouges, produit qu'il peut dédoubler et rendre, par le fait, inactif, si le milieu est favorable, dans une seconde phase de son action.

C. *Propriétés hémolytiques du vitellus de l'œuf, soumis à l'action des venins. Action catalytique des venins sur la lécithine* (1). Les résultats des expériences précédentes, rapprochés des faits, antérieurement établis, sur les propriétés dites « actives », de la lécithine, dans l'hémolyse par les venins, nous

1. C. DELEZENNE et S. LEDEBT. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLIII, p. 81, 1911 et t. CLV, p. 1101, 1912.

Ledebt

ont conduits, M. DELEZENNE et moi, à étudier systématiquement l'action qu'exercent les venins sur un milieu naturel, très riche en lécithine : le vitellus de l'œuf de poule.

Mis en présence de la lécithine isolée, le venin peut, dans certaines conditions favorables d'expériences, transformer cette substance ; et on ne peut plus douter aujourd'hui, que le cobra-lécithide, obtenu par KYES, n'était autre qu'un produit résultant de l'action hydrolysante du venin, sur la lécithine.

Mais en raison de l'insolubilité de la lécithine dans l'eau, l'attaque par le venin en est rendue très difficile ; même en utilisant la technique de KYES et de MANWARING, c'est-à-dire en agitant une solution chloroformique de lécithine, avec une solution aqueuse de venin, on n'obtient des rendements appréciables, qu'à la condition d'employer des doses extrêmement considérables de ce dernier. Cette technique rendait, par le fait, très difficile, sinon impossible, de démontrer que la transformation, subie par la lécithine, était due à une simple action catalytique du venin.

D'autre part, la lécithine isolée, et spécialement le produit commercial, est une substance spontanément très altérable, toujours souillée d'impuretés qui la rendent déjà plus ou moins hémolytique par elle-même (BANG), elle ne pouvait convenir parfaitement pour des expériences très précises.

Le vitellus de l'œuf, par contre, est un véritable milieu naturel, dans lequel la lécithine se trouve en solution ou en émulsion assez fine, pour être aisément attaquée par les ferments. Il faut ajouter, que, dans ce milieu, la lécithine ne paraît pas s'altérer spontanément, et qu'il est, d'autre part, relativement facile de l'en extraire et de la doser. Tous nos essais ont été calqués sur ceux que nous avons faits précédemment sur le sérum. Le vitellus de l'œuf, extrait aseptiquement, et émulsionné dans l'eau physiologique, était additionné de doses variables de venin (filtré sur bougie, ou chauffé au préalable à 70°), et abandonné à l'étuve. Sauf dans les expériences, qui avaient pour but spécial d'étudier l'influence de la température sur la marche du phénomène, nous opérons à 30°, température qui

est au voisinage de l'optimum, et qui présente l'avantage d'être défavorable au développement microbien. Pour rendre tous les essais comparables, les jaunes d'œufs étaient émulsionnés dans l'eau physiologique, de façon à obtenir, pour un vitellus, un volume total de 50 centimètres cubes.

Les quantités de venin, mises en œuvre, ont varié, dans des limites considérables, tout en restant toujours très faibles. Dans les essais, faits avec le venin de Cobra, par exemple, les quantités utilisées ont oscillé entre 1 milligr. et 0 milligr. 00001 pour 1 centimètre cube d'émulsion de vitellus d'œuf.

Le pouvoir hémolytique des mélanges était évalué en ajoutant, après des temps variables, des quantités comprises entre 0 cc. 01 et 0 cc. 001 à 1 centimètre cube d'émulsion globulaire à 5 0/00.

Voici, brièvement résumés, les résultats observés :

Quand les mélanges sont abandonnés à eux-mêmes, soit à la température du laboratoire, soit à l'étuve, avant d'être portés au contact des globules, on observe un développement progressif des propriétés hémolytiques, qui sont d'autant plus intenses et apparaissent d'autant plus rapidement, que la quantité de venin, mise en œuvre, est elle-même plus élevée, et la température d'action plus proche de l'optimum. Mais, quelle que soit la quantité de venin, les mélanges finissent toujours par acquérir, à un moment donné, un pouvoir hémolytique maximum, qui est sensiblement le même dans tous les échantillons. Ce maximum, qui peut être atteint en quelques minutes, quand la dose de venin de Cobra est, par exemple, de 1 milligr. par centimètre cube d'émulsion, n'apparaît qu'après quatre ou cinq heures d'étuve, si la dose de venin est 100 fois plus faible, et on ne l'observe souvent qu'après quatre ou cinq jours, lorsqu'on descend aux doses limites qui correspondent au seuil du pouvoir catalytique du venin de Cobra, et qui peuvent être, suivant les cas, 10.000 et même 100.000 fois plus faibles.

Quelle que soit la dose de venin employée, les quantités correspondantes de vitellus (0 cc. 01 à 0 cc. 001) ne provoquent

jamais d'hémolyse, même tardive, quand venin et vitellus sont ajoutés d'emblée et séparément aux globules. Dans ces conditions expérimentales, l'hémolyse exige, pour se produire, des quantités de vitellus notablement plus fortes, et encore ce résultat n'est-il obtenu, qu'à la condition de leur ajouter des doses élevées de venin.

Ces faits ne permettent pas de douter de la nature du processus, qui se développe dans le vitellus de l'œuf, soumis à l'action du venin. Il ne peut s'agir en effet que d'un processus catalytique, s'exerçant sur une substance, dont l'un des produits de transformation a un pouvoir globulicide extraordinairement intense. Si quelques doutes pouvaient subsister, il suffirait de rappeler : 1° qu'une fois la réaction terminée, le venin peut être récupéré (par précipitation par l'alcool absolu), et mis à même, s'il est ajouté à une nouvelle quantité de vitellus de l'œuf, de recommencer la même action ; 2° que si l'on étudie, sur un mélange déterminé, le développement du pouvoir hémolytique, on observe qu'il se fait suivant les lois ordinaires des actions catalytiques (vitesse initiale de réaction, considérable au début, s'atténuant au fur et à mesure qu'apparaissent les produits formés — influence de la température, de la dilution, etc.).

Le produit, qui se transforme, est bien la lécithine, car l'extraction et le dosage, de cette substance, montrent qu'elle disparaît au cours de la réaction. Ajoutons que les graisses neutres, contenues dans le vitellus de l'œuf, ne sont pas touchées, ce qui prouve (contrairement à l'affirmation de NEUBERG et ROSENBERG) que la diastase du venin est un ferment spécifique des phosphatides.

Vis-à-vis de ces substances et de la lécithine contenue dans le jaune d'œuf, en particulier, l'activité de ce ferment est extrêmement considérable, puisqu'il nous a suffi souvent, de moins de 0 milligr. 0005 de venin de Cobra, pour obtenir la transformation complète de 1 gramme de lécithine. Rappelons à ce propos que, dans ses expériences, relatives au cobra-lécithide, KYES, pour obtenir un rendement nettement appréciable, met-

fait en présence de 1 gramme de lécithine, des quantités de venin variant entre 0 gr. 2 et 1 gramme.

Si on remarque, d'une part, que cette quantité de 1 gramme de lécithine, est précisément la quantité que contient approximativement un vitellus d'œuf, et que renfermaient, par conséquent, nos 50 centimètres cubes d'émulsion, et qu'il a suffi, d'autre part, en général, d'ajouter, à 1 centimètre cube d'émulsion globulaire, moins de 0 cc. 003, pour obtenir l'hémolyse presque instantanée, on voit déjà que la substance hémolytique, dérivée de la lécithine, doit avoir une activité des plus considérable.

Nous pouvons ajouter que le vitellus de l'œuf, maintenu aseptiquement à l'étuve, pendant plusieurs jours, ne manifeste jamais, quelle que soit la quantité ajoutée aux globules, la moindre activité hémolytique. Traité par la kinase pancréatique, qui dédouble complètement les graisses neutres qui y sont contenues, le vitellus reste également inactif sur les globules rouges.

Signalons, d'autre part, que, si on ajoute à l'origine, du sérum antivenimeux spécifique, au mélange vitellus-venin, on constate que ce sérum empêche totalement la transformation de la lécithine et le développement des propriétés hémolytiques ; quand celles-ci sont apparues, le sérum antivenimeux se montre, au contraire, totalement inefficace.

Ce fait démontre que le sérum antivenimeux contient une antidiastase spécifique (antiphosphatidase), et que c'est à elle qu'il faut rapporter les actions dites « antihémolytiques » des sérums spécifiques, antérieurement observées.

Mentionnons enfin, pour être complet, que la diastase lipolytique des venins présente la même résistance à la température, que le venin d'où elle dérive. Dans le venin de Cobra par exemple, elle n'est pas détruite par un chauffage, même prolongé à 70°, et il faut atteindre la température de 100°, maintenue pendant 1/4 d'heure à 1/2 heure, pour la voir disparaître totalement. Fait intéressant, elle résiste, comme le venin lui-même (voir chapitre III), à un chauffage de quelques heures à

la température d'ébullition, si la solution, qui la renferme, est additionnée d'HCl de façon à ce que le milieu ait une acidité égale à $\frac{N}{10}$.

Cette résistance d'une diastase aux températures élevées, résistance qui s'exagère encore considérablement dans des conditions de milieu particulières, est un fait important, que nous avons tenu à souligner, et sur lequel nous nous proposons M. DELEZENNE et moi de revenir ailleurs.

Un caractère fondamental sépare l'action du venin, sur le vitellus de l'œuf, de son action sur le sérum sanguin. Alors que les mélanges venin-sérum, après avoir atteint un pouvoir hémolytique maximum, perdent peu à peu les propriétés qu'ils ont acquises, pour devenir totalement inactifs, voire même empêchants, les mélanges vitellus-venin restent indéfiniment hémolytiques. Dans le milieu œuf, la seconde phase du phénomène, qui consiste en un dédoublement, par le venin, de l'hémolysine formée, ne se fait pas. Nous verrons plus loin qu'il est possible d'obtenir ce dédoublement, en faisant agir le venin sur l'hémolysine isolée, et préalablement dissoute, dans des milieux minéraux appropriés.

III. — LA LYSOCITHINE. — SA NATURE ET SES PROPRIÉTÉS

A. *Préparation, constitution et propriétés chimiques essentielles de la lysocithine* (1). — Pour isoler et caractériser la substance hémolytique contenue dans le vitellus d'œuf, traité par le venin, nous nous sommes arrêté, après de multiples essais, à la technique suivante :

Quand le mélange venin-vitellus a atteint son activité maximum, on le dessèche, aussi rapidement que possible, sur le vide sulfurique. La masse obtenue est finement broyée, et la poudre épuisée par l'acétone à froid. Le résidu, mis à nouveau

1. C. DELEZENNE et E. FOURNEAU. *Bull. Soc. Chim.*, t. XV-XVI, n° 8, p. 234 et p. 421, 1914.

à dessécher, est repris par l'alcool absolu à froid, et le soluté, concentré dans le vide, est précipité par l'éther anhydre. On achève de purifier par plusieurs redissolutions dans l'alcool, et précipitations par l'éther. Le produit ainsi obtenu, sur la nature duquel nous avons déjà donné quelques brèves indications, dans une des notes que nous avons publiées avec M. DELEZENNE (1), a été étudié très complètement dans la suite, au point de vue chimique, par MM. DELEZENNE et FOURNEAU, qui ont fixé définitivement sa constitution.

A cette substance, qu'ils ont pu obtenir à l'état de pureté et cristallisée, MM. DELEZENNE et FOURNEAU ont donné le nom de *lysocithine* (contraction de lysine et de lécithine) qui indique à la fois son origine et sa propriété essentielle.

Nous croyons utile de résumer très brièvement les conclusions de l'important mémoire, qu'ils ont publié récemment à ce sujet, dans le *Bulletin de la Société chimique*.

Simplement précipitée par l'éther anhydre, de l'extrait alcoolique des œufs traités par le venin, la lysocithine est impure. Pour la purifier, il est nécessaire de procéder à des cristallisations répétées, dans l'alcool absolu. On la dissout ensuite dans le chloroforme chaud. La solution refroidie se prend en une masse cristalline. On essore les cristaux ; on les dissout dans un peu d'alcool absolu chaud, et on ajoute de l'éther de pétrole à la solution alcoolique, jusqu'à ce qu'un léger trouble apparaisse. Au bout de quelques secondes, de petites aiguilles se forment dans la liqueur, et bientôt toute la lysocithine se sépare, en une pluie de tablettes brillantes, détachées les unes des autres, formant une poudre cristalline, légère et nacrée.

La lysocithine est très soluble dans l'eau tiède, dans l'alcool absolu chaud. Elle est très peu soluble dans le chloroforme, presque insoluble dans le benzène et l'éther de pétrole, insoluble dans l'éther, l'acétone et l'éther acétique. Elle n'a pas de point de fusion. Elle est *neutre* au tournesol.

En solution aqueuse neutre, elle n'est précipitée, ni par le

1. C. DELEZENNE et S. LEDEBT. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLV, p. 1101, 1912.

chlorure d'or, ni par l'eau de baryte, ni par le sulfate de cuivre, ni par l'acétate de plomb neutre ; ce qui prouve que dans la lysocithine, la fonction éther de la choline, qui existe dans la lécithine, a été conservée.

En solution alcoolique, la lysocithine donne, par le chlorure de platine, un précipité, cristallisé en fines aiguilles hygroscopiques, solubles dans l'eau froide, insolubles dans l'alcool. En solution aqueuse acide, elle donne, avec le chlorure d'or, un précipité gélatineux très épais. Elle ne fournit pas la réaction de Florence, caractéristique de la choline.

Les analyses ont permis d'établir que la lysocithine est l'anhydride de l'éther palmitophosphoglycérique de la choline, mélangé d'un peu d'éther stéarique. Si on met en regard les chiffres calculés et les chiffres trouvés, on s'en convaincra aisément.

Chiffres calculés : C, 58,12 ; H, 10,17 ; P, 6,26 ; Az, 2,83.

Chiffres trouvés : C, 58,21 ; H, 10,20 ; P, 6,02 ; Az, 2,60.

L'alcoololyse de cette substance, faite par la méthode de M. HALLER, a montré, d'autre part, que l'acide gras, contenu dans la lysocithine, est bien l'acide palmitique, et que les quantités de choline et d'acide glycérophosphorique, mises en liberté, correspondent, à la fois, aux chiffres de la formule théorique, et à ceux qui sont fournis par l'analyse élémentaire.

Le venin de Cobra enlève donc, à la lécithine, l'acide oléique, ou plutôt le mélange des acides non saturés qu'elle renferme. La lysocithine ne contient plus d'acides non saturés, lesquels se retrouvent intégralement dans l'extrait acétonique des œufs, traités par le venin.

Quand la réaction est complète, non seulement l'hémolysine brute ne contient plus de lécithine, mais l'huile des œufs traités n'en contient pas davantage. D'autre part, on retrouve aisément dans les eaux mères, provenant de la préparation de la lysocithine, l'excès des acides non saturés, dérivant du dédoublement de la lécithine. Les chiffres, fournis par la mesure des indices d'iode, sont presque théoriques. Ce fait

prouve, une fois de plus, que l'action diastasique du venin est nulle sur l'huile d'œuf proprement dite, et ne s'exerce pas sur les phosphatides.

B. *Propriétés biologiques de la lysocithine.* — Dissoute dans l'eau, la lysocithine pure manifeste des propriétés hémolytiques extrêmement intenses. Son action s'exerce indifféremment sur toutes les espèces globulaires, et elle agit avec la même intensité à 0°, qu'à la température du laboratoire ou à celle de l'étuve. Son action n'est jamais précédée d'un temps perdu; jusqu'aux doses limites où elle peut agir, l'hémolyse est, pour ainsi dire, instantanée. Elle agit quantitativement, en ce sens, qu'une dose déterminée de lysocithine ne peut détruire qu'une quantité fixe de globules. Ce phénomène se marque, tout particulièrement bien, lorsqu'on étudie l'action des doses limites. Alors que celles-ci déterminent encore une hémolyse presque instantanée, aucune destruction globulaire, même tardive, ne se produit, quand on ajoute aux globules, une quantité de lysocithine égale à la moitié ou au quart de la quantité qui se montre très rapidement efficace. D'autre part, les variations, que l'on observe d'une expérience à l'autre, sont minimes, au moins lorsqu'on emploie des globules rouges appartenant à la même espèce. Ces différences, qui tiennent à la richesse quelque peu variable des émulsions globulaires, à l'âge des hématies, à la résistance ou à la fragilité particulières, que présentent parfois ces éléments, etc., n'excèdent guère le rapport du simple au double. En règle générale, il suffit de 0 milligr. 008 à 0 milligr. 01 de lysocithine pour provoquer l'hémolyse immédiate (1 à 3 minutes) de 1 centimètre cube de globules de cheval à 50/0. Notons cependant que, dans certaines expériences, on a pu descendre à 0 milligr. 003, alors que dans d'autres, il a fallu atteindre, pour obtenir le même résultat, 0 milligr. 012 à 0 milligr. 013.

L'action de la lysocithine n'est empêchée, ni par les sels de calcium, ni par le sérum antivenimeux correspondant au venin, qui a servi à la libérer. Par contre, elle est neutralisée aisé-

ment par la cholestérine. Le sérum normal peut empêcher, à un certain degré, les effets de la lysocithine, en raison précisément de la cholestérine qu'il renferme.

Fait intéressant, la neutralisation de la lysocithine par la cholestérine, se fait sensiblement, molécule à molécule. MM. DELEZENNE et FOURNEAU (1), qui ont étudié, au point de vue chimique, les rapports réciproques de ces deux substances, ont observé que, dans des conditions d'expérience déterminées, la lysocithine peut fixer très exactement une molécule de cholestérine, pour donner naissance à un composé, dépourvu d'action hémolytique. Ce composé présente la particularité de retenir l'eau avec la plus grande énergie. MM. DELEZENNE et FOURNEAU pensent que c'est peut-être à cette hygrophilie, du composé lysocithine-cholestérine, que doit être rapportée précisément l'action hémolytique, si puissante de la lysocithine. En s'unissant à la cholestérine des globules, la lysocithine augmenterait dans d'énormes proportions le coefficient d'imbibition de ces éléments, d'où rupture d'équilibre et diffusion du contenu protoplasmique au dehors. Cette conception, qui est d'accord avec certaines observations récentes de A. MAYER (2) et de ses collaborateurs, est actuellement soumise à un contrôle expérimental.

Injectée aux animaux, la lysocithine pure ne provoque la formation d'aucun anticorps. En injection sous-cutanée, elle est d'ailleurs atoxique et ne détermine que des phénomènes locaux (œdème, escharres et nécrose du tissu cellulaire) dus à son action cytolytique générale.

La lysocithine n'est pas, en effet, comme pourrait le faire supposer l'étude toute particulière, consacrée à son action sur les globules rouges, un poison exclusivement hémolytique. Son action s'exerce, à des degrés variables, sur la plupart des éléments cellulaires : c'est une cytolsine, au sens le plus large du mot. Elle détruit les leucocytes, les cellules épithé-

1. C. DELEZENNE et FOURNEAU. *loc. cit.*

2. A. MAYER et SCHEFFER. *Journ. de Physiol. et de Pathol. gén.*

liales, les cellules des tissus ou des organes. Mise en contact *in vitro* avec les éléments cellulaires du foie, du cerveau, du rein, elle les altère profondément, et si la dose employée est suffisante, elle les dissout totalement comme elle dissout les hématies.

Le globule rouge reste, cependant pour l'étude de la lysocithine, comme pour l'étude de tous les poisons cytolytiques d'ailleurs, l'élément de choix. Cellule isolée, et facilement accessible aux poisons dissous dans les milieux où elle baigne, elle possède, en outre, grâce à la matière colorante qu'elle renferme, la capacité de révéler elle-même, en quelque sorte, les altérations qu'elle subit. Comme l'a très bien dit P. NOLF (1) « c'est la couleur rouge de l'hémoglobine qui a fait l'immense succès des expériences d'hémolyse ».

Et de fait, il n'est aucune autre action cytolytique qui puisse, non seulement être mise aussi aisément en évidence, mais qui puisse encore, à l'exemple de l'hémolyse, être exactement appréciée et en quelque sorte dosée.

Tenter de comparer l'intensité de l'action, exercée par la lysocithine, sur un élément cellulaire donné, à celle que manifeste cette substance sur les hématies, est donc pratiquement impossible. Ce qu'il faut retenir, c'est que la lysocithine altère d'autres cellules que les globules rouges, et que cette action peut, dans certains cas, se traduire par des troubles physiologiques faciles à analyser.

Dans des recherches encore inédites, MM. DELEZENNE et LAMBERT ont observé, par exemple, que la lysocithine est un poison des plus énergiques pour le cœur isolé. Dissoute dans du liquide de RINGER-LOCKE, la lysocithine détermine, en circulation artificielle, et à doses extrêmement faibles, des troubles du rythme et de la contraction cardiaque, qui sont suivis très rapidement de l'arrêt et de la mort du cœur.

Injectée dans les veines, la lysocithine pure est toxique, pour le cobaye et le lapin, à des doses qui peuvent paraître rela-

1. P. NOLF. Article Hémolyse du *Dictionnaire de Physiologie* de Ch. Richet, 1908.

tivement élevées, si on songe à l'activité de son pouvoir hémolytique. Il faut atteindre en effet, pour obtenir la mort, la dose de 8 à 10 milligrammes chez un cobaye de 500 grammes, et la dose moyenne de 30 milligrammes par kgr. chez le lapin.

Mais il faut se rappeler que, dans le torrent circulatoire, une partie de la lysocithine est neutralisée par la cholestérine du sérum, alors qu'*in vitro* son pouvoir hémolytique est apprécié sur des globules lavés, et que, d'autre part, la quantité injectée se répartit très vraisemblablement, non seulement sur les globules rouges, mais encore sur tous les autres éléments avec lesquels elle entre directement en contact, et spécialement avec les cellules endothéliales des vaisseaux.

Il est vraisemblable d'ailleurs, que c'est à l'altération simultanée de l'endothélium vasculaire et des globules rouges, qu'il faut attribuer les coagulations qui se produisent, presque inévitablement, dans le cœur et les gros vaisseaux, quand la lysocithine est injectée à dose immédiatement mortelle. *In vitro*, en effet, cette substance n'exerce aucune action coagulante directe sur le plasma sanguin.

Ajoutons que la différence considérable d'activité, manifestée par la lysocithine, lorsqu'elle est injectée sous la peau ou dans les veines, ne doit pas surprendre. Bien qu'elle soit soluble dans l'eau, la lysocithine est une substance peu diffusible et pratiquement incapable de traverser les membranes (elle est totalement retenue par les filtres en collodion). Comme elle forme, d'autre part, avec la cholestérine des humeurs ou des éléments cellulaires qu'elle atteint, une combinaison qui la rend, en quelque sorte, indisponible, on comprend que, retenue et fixée *in situ*, elle ne manifeste, en injection sous-cutanée, d'autre action qu'une altération purement locale des cellules avec lesquelles elle entre en contact.

Lorsqu'elle est introduite dans le torrent circulatoire, au contraire, la lysocithine, mise d'emblée, pour ainsi dire, en rapport avec les cellules du sang, des vaisseaux et des organes, se répartit sur ces divers éléments, suivant les affinités particulières, que manifestent, vis-à-vis d'elle, certains de leurs constituants,

et provoque des actions assez graves et assez étendues pour que la mort de l'animal s'ensuive presque immédiatement.

On a vu plus haut, que l'étude de la constitution chimique de la lysocithine a montré à MM. DELEZENNE et FOURNEAU que cette substance est un éther palmitophosphoglycérique de la choline. Partant de ces données, MM. FOURNEAU et PAGE (1) ont pensé qu'il était intéressant de préparer synthétiquement toute une série d'éthers de la choline, dans le but d'étudier leur action physiologique et tout spécialement leurs propriétés hémolytiques.

En traitant les éthers de la bromhydrine, de la chlorhydrine et de l'iodhydrine du glycol, par la triméthylamine en solution benzénique, ils ont réussi à préparer un certain nombre de ces éthers, dont quelques uns, tels que le *stéarylchloréthanol*, le *palmitylchloréthanol*, le *caprylchloréthanol*, etc., n'avaient pas encore été décrits. Or, ce sont précisément ceux dont il était intéressant d'étudier les propriétés hémolytiques, en raison de leur parenté avec la lysocithine. Les recherches que nous avons faites à ce sujet, avec M. DELEZENNE, nous ont montré que, parmi ces produits synthétiques, il en est quelques-uns qui ont une activité à peu près égale à celle de la lysocithine. Les chlorures de palmitylcholine et de stéarylcholine qui sont les plus voisins, ont un pouvoir hémolytique à peine inférieure à celui de la lysocithine. Le chlorure de myristicylecholine est déjà trois à quatre fois moins actif et, fait qui au premier abord peut surprendre, le chlorure d'oléylcholine se place lui-même bien au-dessous des précédents; enfin le chlorure de laurylcholine, le moins actif de tous, a un pouvoir hémolytique quinze à vingt fois plus faible que celui de la lysocithine. A partir de ce dernier, les termes inférieurs de la série, chlorures de pélargonyl, de capryl, de butyl et d'acétylcholine, sont dépourvus de toute activité hémolytique. Nous croyons inutile de souligner l'intérêt qui s'attache à ces données, qui établissent, pour la première

1. E. FOURNEAU et H.-J. PAGE. *Bull. Soc. Chim.*, t. XV-XVI, n° 8, p. 355, 1914.

fois, la possibilité d'obtenir synthétiquement des éthers de la choline, dont l'activité cytolytique est considérable, et à peine inférieure, pour quelques-uns tout au moins, à celle de la lysocithine.

C. Dédoublément de la lysocithine par les venins. Rôle des sels. — Nous avons observé que la lysocithine peut elle-même être dédoublée par les venins, quand on fait agir ces derniers dans un milieu minéral approprié.

Dans l'eau pure, à l'abri de toute contamination microbienne, la lysocithine n'est pas modifiée; mais, en présence de venin de Cobra, par exemple, elle subit lentement une transformation particulière, sans libération apparente d'acide gras, et sans perte appréciable de pouvoir hémolytique.

Dissoute dans le liquide de dialyse du sérum, l'humeur aqueuse, ou le liquide céphalo-rachidien, la lysocithine abandonne, en présence du venin, la molécule d'acide palmitique qu'elle renferme, pour donner, avec la chaux du milieu, un précipité de savon calcique, qui est l'homologue du précipité que nous avons vu se produire dans le sérum, au cours de la seconde phase de l'action du venin sur ce liquide.

Fait curieux, les solutions salines artificielles, dont la composition minérale se rapproche, de très près, de celle des milieux naturels (sérum, humeur aqueuse, etc.), sont infiniment moins favorables, à cette action seconde du venin, que les milieux naturels. Un fait qui n'est pas douteux, c'est que la présence de la *chaux*, sous une forme qui reste encore à définir, est nécessaire à l'élimination quantitative et rapide de la molécule d'acide palmitique. L'addition d'oxalate de soude au liquide céphalo-rachidien ou à l'humeur aqueuse, empêche ce phénomène de se produire, et la lysocithine reste active même en présence de venin. On se rappelle que nous avons signalé plus haut, que l'hémolysine du sérum cesse, elle aussi, d'être dédoublée, si on prive, ce milieu des sels, et en particulier du calcium, qu'il renferme.

IV. — APERÇU GÉNÉRAL SUR LES POISONS LIBÉRÉS PAR LES VENINS

La lysocithine n'est certainement pas la seule substance toxique que peuvent libérer les venins, aux dépens des matériaux qu'ils rencontrent dans l'organisme. La multiplicité de leurs actions diastasiques fait prévoir qu'ils peuvent attaquer des substances complexes, autres que la lécithine, et mettre en liberté des poisons, dont l'action physiologique peut être toute différente de l'action de la lysocithine ou des produits du même groupe. En raison des faits que nous venons de rapporter, il n'est pas illégitime de supposer que la plupart, sinon toutes les actions physiologiques, que déterminent les venins, relèvent de processus catalytiques. Si les venins peuvent engendrer des poisons, capables de dissoudre les éléments cellulaires, ne peut-on penser qu'ils sont capables également d'engendrer des poisons d'une toute autre nature, et se rapprochant des alcaloïdes, par exemple. Cette hypothèse, qui expliquerait mieux les multiples actions physiologiques des venins, que la conception d'une action directe de ces derniers sur l'organisme, trouve un appui sérieux dans les expériences diverses, que nous avons poursuivies avec M. DELEZENNE (1), et dont les plus intéressantes se rapportent encore à l'action du venin sur le vitellus de l'œuf.

Nous avons observé, qu'indépendamment de leurs propriétés hémolytiques, les mélanges de venin et de vitellus de l'œuf acquièrent une toxicité considérable pour les animaux.

En injections intraveineuses, les émulsions, faites au titre que nous avons indiqué précédemment, tuent presque invariablement — lorsqu'elles ont acquis leur toxicité maximale — le lapin, à la dose de 1 cc. 5 à 2 centimètres cubes par kg., et le cobaye, à la dose de quelques dixièmes de centimètre cube.

1. C. DELEZENNE et S. LEDEBT. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLIII, p. 84, 1914 et *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXI, p. 121, 1914.

Or la mort n'est pas imputable à la destruction globulaire *in vivo*, car l'hémolyse est nulle ou insignifiante, avec les doses employées. D'ailleurs, la teneur en lysocithine, des quantités injectées, est trop faible pour expliquer la mort, qui n'est jamais due, comme celle qui est provoquée par l'injection d'une dose suffisante de cette substance, à des coagulations intravasculaires.

Qu'il s'agisse du lapin, du cobaye ou du chien, les phénomènes observés rappellent, de très près, par contre, le syndrome anaphylactique propre à chacun de ces animaux. Chez ceux qui résistent, ou qui ne succombent que tardivement, on observe, outre la parésie, des phénomènes convulsifs, des troubles respiratoires caractéristiques de l'intoxication anaphylactique et de l'intoxication peptonique, une chute considérable de la pression sanguine, une diminution de la coagulabilité du sang, des vomissements, des émissions vésicales ou rectales, etc.

Or, le venin lui-même ne peut être incriminé car il suffit, pour obtenir la mort, d'une quantité d'émulsion qui renferme, suivant le cas, des doses jusqu'à 10.000 et 20.000 fois inférieures à la dose mortelle. D'ailleurs, le sérum antivenimeux, avec lequel il est si facile de neutraliser le venin, à l'origine, ne modifie, en aucune façon, la toxicité acquise par les mélanges. Il faut ajouter, d'autre part, que cette toxicité ne disparaît pas davantage à la suite d'une ébullition prolongée.

Que cette propriété des mélanges vitellus-venin résulte, comme la propriété hémolytique, d'une action catalytique du venin, cela ne peut faire aucun doute. Outre que des doses infimes de venin donnent, en quelques jours, des mélanges tout aussi toxiques que d'autres renfermant des quantités 1.000 ou 10.000 fois supérieures, et qui atteignent leur maximum de nocivité en quelques heures ou en quelques minutes, l'étude du développement des propriétés toxiques, pour un mélange déterminé montre que celles-ci suivent une évolution qui répond aux lois fondamentales des actions catalytiques. D'autre part, ici encore, le venin, isolé du mélange à la fin de la réaction, est capable de donner, s'il est ajouté à une nouvelle quantité de

vitellus d'œuf, un second mélange qui devient, à un moment donné, aussi toxique que le précédent.

Devons-nous conclure, sans réserve, qu'il se forme réellement, à côté de la lysocithine, un poison d'une autre origine et d'action physiologique différente. Quoique cette conclusion paraisse s'imposer, nous ne pourrions cependant la formuler, avec une absolue certitude, que le jour où ce produit aura été isolé, et que nous connaîtrons la substance d'où il dérive. Nous supposons, pour l'instant, qu'il s'agit d'un produit, résultant de l'attaque des matières albuminoïdes particulières qui sont contenues dans le vitellus de l'œuf, car les mélanges, qui ont atteint leur maximum de toxicité, ont perdu totalement la faculté d'être coagulés par la chaleur.

Si l'ensemble des faits, que nous venons d'exposer, démontre, à n'en pas douter, que diverses actions physiologiques, produites par les venins, doivent être rapportées à des processus catalytiques, s'exerçant dans les humeurs ou au sein de la cellule, et aboutissant à la formation de produits immédiatement nocifs, il serait, pour l'instant tout au moins, excessif d'affirmer que tous les phénomènes physiologiques, provoqués par les venins, rentrent dans le cadre des actions indirectes et sont attribuables à des diastases.

Nous ignorons totalement la constitution chimique des venins de serpents et nous ne savons pas si, dans certains d'entre eux, il n'existe pas, à côté des ferments, dont on ne peut nier les effets sur les organismes vivants, des poisons chimiquement définis, capables, à des doses extraordinairement faibles, de produire des désordres comparables à ceux que provoquent les alcaloïdes, les glucosides ou les poisons que libèrent les diastases des venins eux-mêmes. De tels produits existent, à vrai dire, dans des sécrétions venimeuses, que l'on rapproche souvent des venins de serpents, et il nous suffit de rappeler l'existence des poisons cristallisables que FAUST (1), PHISALIX et BER-

1. E.-S. FAUST. *Arch. f. exper. Path. und Pharmac.*, t. XLI, p. 219, 1898 ; t. XLVIII, p. 84, 1900 et t. XLVIII, p. 279, 1902.

TRAND (1), etc., ont caractérisé dans la sécrétion cutanée de la salamandre, du triton ou du crapaud. Mais il s'agit ici de poisons alcaloïdiques, aisément solubles dans l'alcool absolu, le chloroforme, etc., et qui ne paraissent pas avoir d'homologues dans les venins de serpents. ARMAND GAUTIER (2) paraît bien avoir retiré du venin de Cobra, à l'état de traces, des bases voisines des alcaloïdes, mais ces substances, qui résultaient très vraisemblablement d'ailleurs, d'altérations microbiennes, étaient presque totalement atoxiques. BLYTH (3) a cru, d'autre part, à l'existence d'un acide particulier, l'acide cobrique que WOLFENDEN (4) et d'autres après lui n'ont pu retrouver.

Plus récemment, FAUST (5) a séparé du venin de Cobra une substance qu'il considère comme le principe actif et à laquelle il a donné le nom d'ophiotoxine. A cette substance amorphe et insoluble dans l'alcool, qu'il range dans le groupe des sapotoxines, il attribue, à la suite de quelques analyses, la formule empirique : $C^{17}H^{20}O^{10}$. Nous avons repris les recherches de FAUST, en suivant exactement sa technique, qui est à la fois longue et complexe, mais en opérant avec des précautions suffisantes, pour éviter l'ingérence des germes, au cours des manipulations. Les résultats tout à fait négatifs que nous avons obtenus, nous portent à croire que la substance, isolée par FAUST, ne préexiste pas, dans le venin, mais résulte très vraisemblablement d'une altération microbienne de l'un de ses constituants. D'ailleurs, les recherches toxicologiques de FAUST montrent que l'ophiotoxine possède des propriétés qui la distinguent incontestablement du venin originel.

Si les recherches chimiques ne nous fournissent aucune donnée positive certaine sur la présence, dans les venins, de poisons définis et distincts des diastases qu'ils renferment, l'expérimentation physiologique est-elle capable de nous donner à ce sujet des renseignements plus précis ?

1. PHISALIX et BERTRAND. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXXV, p. 46, 1902.

2. A. GAUTIER. *Bull. Acad. Med.*, p. 947, 1881.

3. BLYTH. *Analyst*. Londres, 1877, t. I, p. 204.

4. WOLFENDEN. *Journ. of Physiol.*, t. VII, p. 327, 1886.

5. FAUST. *Arch. f. exp. Path. und Pharmak.*, t. LVI, p. 236, 1907.

On sait que l'inoculation des venins des Vipéridés se caractérise, presque exclusivement, chez les vertébrés supérieurs, par des lésions locales plus ou moins étendues, des altérations graves du sang et des vaisseaux, des hémorragies. Tous ces phénomènes peuvent trouver leur explication dans les faits que nous avons mis en évidence, et il est vraisemblable qu'aucun d'eux ne relève d'une action primitive et directe du venin.

Les venins des Colubridés, dont le type est le venin de Cobra indien, déterminent, en général, des phénomènes tout différents. Ils provoquent des paralysies et tout spécialement de la paralysie respiratoire, que l'on a le plus souvent attribué à un poison bulbaire, la « neurotoxine » que divers auteurs, ARTHUS (1) notamment, considèrent, au contraire, comme un véritable poison curarisant. A côté de la « neurotoxine », le venin de Cobra renferme, comme les venins des Vipéridés, d'autres principes actifs, dont l'action s'efface souvent devant celle de la « neurotoxine », en raison de l'activité particulière et de la rapidité d'action de cette dernière. L'un de ces principes actifs, dont l'existence peut se manifester aisément *in vivo* chez certaines espèces animales, particulièrement sensibles (chien), et qui a été considéré comme une « hémolysine », n'est autre que la diastase des phosphatides que les recherches, rapportées ci-dessus, ont mis en évidence.

On a longuement discuté pour savoir si « l'hémolysine » et la « neurotoxine » du venin de Cobra sont bien des substances distinctes. MYERS (2), qui s'est posé le premier la question, a affirmé qu'il fallait nettement séparer, dans le venin de Cobra, la *cobralysine* de la *cobranervine*. Après lui, divers auteurs et en particulier KYES (3), ont très nettement affirmé la dualité des deux principes, tandis que d'autres, avec BANG et OVERTON (4), ont soutenu que la « neurotoxine » et l'« hémolysine » étaient une seule et même substance. Aucune des raisons apportées

1. ARTHUS. *Arch. intern. de Physiol.*, t. X, p. 460, 1910.

2. MYERS. *British. med. Journ.*, 1900, t. I, p. 348 et *Journ. of Pathol. and Bacteriol.*, t. VI, p. 415, 1900.

3. KYES. *Journ. of infectious diseases*, 1910.

4. BANG et OVERTON. *Bioch. Zeitschrift*, t. XXI, 1911.

par ces auteurs, en faveur de l'une ou l'autre conception, n'est absolument convaincante; les expériences sur lesquelles on s'était le plus fortement appuyé pour affirmer la dualité de ces deux principes actifs du venin, celles de KYES en particulier, sont même caduques, puisque la prétendue combinaison de la lécithine avec l'« hémolysine », à l'exclusion de la « neurotoxine », n'existe pas. D'autre part, les arguments tirés de l'influence différente qu'exercerait la température sur les deux principes actifs considérés, ne sont d'aucune valeur, l'« hémolysine » qui n'est autre, nous le savons, que la diastase lipolytique, ayant la même résistance à la chaleur, en milieu acide, que le venin lui-même.

Des expériences encore inédites (C. DELEZENNE et S. LEDEBT) que nous résumons brièvement ci-dessous, montrent, cependant, qu'il faut incontestablement distinguer, dans le venin de Cobra, la diastase lipolytique (hémolysine des auteurs anciens), du principe qui détermine chez l'animal les accidents caractéristiques de l'intoxication cobraïque.

Si on traite une solution de venin de Cobra par l'alcool, de façon à obtenir un titre alcoolique voisin de 80°-85°, la portion qui reste soluble, et qui représente un tiers environ du venin employé, est totalement dépourvue d'activité lipolytique alors que son pouvoir toxique pour les animaux n'a pas sensiblement varié. Les lapins, injectés avec cette portion du venin desséchée et redissoute dans l'eau, succombent avec les phénomènes ordinaires de paralysie respiratoire. L'évaluation de la dose minima mortelle montre que celle-ci est, au plus, égale au double de la dose primitive (1). Le précipité renferme toute la diastase lipolytique dont on peut mettre aisément l'action en évidence, sur le sérum ou le vitellus de l'œuf, et la diastase qui confère à ce dernier des propriétés toxiques particulières pour les animaux; mais il contient également une portion de la « neurotoxine » qui a été entraînée dans la précipitation.

Ajoutons qu'il est possible d'obtenir des résultats du même ordre, en ayant recours à la précipitation des solutions de venin de Cobra par certains sels à des concentrations déterminées.

Si ces expériences prouvent que le principe neurotoxique du

(1) Signalons, en passant, que cette portion du venin de Cobra, qui correspond à la « neurotoxine » des auteurs, est sensiblement aussi toxique pour les poissons, en addition au milieu extérieur que le venin total original.

venin de Cobra est nettement distinct de la diastase qui provoque indirectement l'hémolyse, elles ne démontrent pas cependant que ce principe n'est pas lui-même un catalyseur, plus résistant aux actions précipitantes, et capable d'agir dans l'organisme, sur d'autres matériaux que le ferment des phosphatides par exemple.

Il est de notion courante, en effet, que les ferments solubles sont aisément entraînés par les précipités que l'on produit au sein des liqueurs où ils sont dissous ; ce phénomène peut varier considérablement d'une diastase à l'autre et la pratique a montré précisément que l'on peut, dans une certaine mesure, appliquer cette méthode à la séparation, dans un liquide diastasi-fère, des divers ferments qu'il renferme.

La grande solubilité de la « neurotoxine » dans l'alcool fort ne s'oppose pas davantage à cette hypothèse. On sait que divers ferments, et tout spécialement quelques ferments des hydrates de carbone, sont particulièrement résistants à la précipitation par l'alcool, et A. DASTRE (1) a fort bien montré que certains d'entre eux peuvent même exercer leur action diastasique dans des liquides de titre alcoolique excessivement élevé.

D'autre part, si elle est très soluble dans l'alcool fort, la « neurotoxine », il ne faut pas l'oublier, est tout à fait insoluble dans l'alcool absolu et peut donner naissance, comme tous les ferments ou les toxines, à des anticorps, capables de neutraliser ses effets.

Nous nous garderions bien d'affirmer cependant, en nous appuyant sur ces quelques caractères, que la « neurotoxine » n'est pas un véritable poison direct. Ce que nous avons voulu montrer, c'est que, dans l'état actuel de nos connaissances, rien ne s'oppose à ce que l'on considère cette substance, provisoirement tout au moins, comme un catalyseur, distinct à la vérité des autres diastases contenues dans le venin, et dont il reste à définir les propriétés et le mode d'action.

1. A. DASTRE. Solubilité et activité des ferments solubles dans les liqueurs alcooliques. *C. R. Soc. de Biol.*, t. XLVII, p. 424 et 798, 1895.

Quoi qu'il en soit, il ressort de l'ensemble des faits, que nous venons de passer en revue, qu'il existe, dans les venins de serpents, des diastases capables de libérer, aux dépens de certains matériaux de l'organisme, des produits directement nocifs pour les éléments cellulaires, et doués d'une très grande toxicité pour les mammifères.

On verra, dans les chapitres qui vont suivre, qu'il est très facile de mettre en évidence, par la méthode que nous avons utilisée dans la première partie de nos recherches, l'action de ces poisons sur les vertébrés aquatiques.

Outre l'intérêt spécial qu'elle présente, cette étude apportera par une technique très simple, la confirmation des faits essentiels que nous venons d'exposer.

CHAPITRE VIII

Action des poisons engendrés par les venins, aux dépens du sérum et du vitellus de l'œuf, sur les vertébrés aquatiques

I. — TOXICITÉ DU SÉRUM SANGUIN SOUMIS A L'ACTION DES VENINS

Nous avons à nous demander, tout d'abord, si les sérums sanguins des mammifères sont assez peu nocifs, par eux-mêmes, à l'égard des vertébrés aquatiques pour, qu'aux doses où nous aurions à les employer, ils puissent être considérés comme totalement inoffensifs pour ces animaux.

Un certain nombre d'essais préalables nous ont montré, qu'en dilution dans l'eau redistillée, à des titres ne dépassant pas $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$, ou même $\frac{1}{4}$, les sérums de mammifères sont, pour ainsi dire, complètement atoxiques pour les vairons ou les têtards; à doses plus élevées, certains d'entre eux déterminent des accidents, voire même quelquefois, la mort rapide des animaux, mais ces phénomènes cessent de se produire, lorsque les sérums ont été chauffés, au préalable, à une température de 56°.

Le sérum de cheval qui est, pour ainsi dire, totalement dépourvu de toxicité pour les mammifères, soit en injection intraveineuse, soit en injection péritonéale, l'est également pour les poissons ou les larves de batraciens, en addition au milieu extérieur. En règle générale, ces animaux vivent, sans présenter le moindre trouble, pendant plus de vingt-quatre

heures, dans de l'eau redistillée, renfermant $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{3}$, voire même $\frac{1}{2}$ de son volume de sérum de cheval.

Qu'il s'agisse de ce sérum ou de tout autre d'ailleurs, l'expérience ne peut pas être prolongée un temps plus long, car, malgré les précautions que l'on peut prendre, pour éviter une contamination trop rapide du sérum, celui-ci finit toujours par être abondamment cultivé, et à constituer, par conséquent, un milieu impropre à la vie des animaux.

Les autres sérums, que nous avons expérimentés, sont tous, à l'état frais tout au moins, plus nocifs, pour les vertébrés aquatiques, que le sérum de cheval, mais il suffisait, lorsqu'on voulait les utiliser à forte dose, de les chauffer une demi-heure à 56° , pour voir disparaître totalement leurs effets nocifs primitifs. Le sérum de chien, par exemple, qui est un de ceux qui se montrent les plus actifs, et qu'on ne peut pratiquement employer, à l'état frais, en dilution supérieure au $\frac{1}{5}$, devient tout à fait inoffensif en dilution au $\frac{1}{3}$, même au $\frac{1}{2}$, s'il a été porté une demi-heure à 56° .

Sauf dans quelques expériences spéciales, sur les têtards, nous n'avons jamais employé, lorsqu'il s'est agi de mettre en évidence l'action des venins sur les sérums frais ou chauffés, de dilutions supérieures au $\frac{1}{15}$ ou au $\frac{1}{10}$; en fait, avec les poissons par exemple, et c'est presque exclusivement sur les vairons que nous avons opéré, nous nous bornions à ajouter, à l'eau redistillée, 10 à 15 centimètres cubes de sérum, de façon à obtenir un volume total de 150 centimètres cubes.

Quant aux venins, ils étaient tantôt introduits directement dans le milieu, en même temps que le sérum et à dose très inférieure à la dose mortelle, tantôt au contraire ajoutés au préalable à ce dernier, et portés en mélange, pendant des temps variables, à l'étuve à 40° ou 50° . Dans ce cas, si la quantité de venin, ajoutée au sérum, était supérieure à la dose minima mortelle, on additionnait le mélange, au moment des

essais sur les animaux, d'une dose neutralisante de sérum anti-venimeux spécifique.

Les venins, auxquels il convenait de s'adresser tout d'abord, étaient évidemment ceux qui s'étaient montrés les plus inoffensifs, par eux-mêmes, pour les vertébrés aquatiques.

Nous avons vu précédemment que le venin de Céraste est, de tous ceux que nous avons étudiés, celui qui est le moins nocif pour les vairons. On se rappelle que, vis-à-vis de ces animaux, le venin de Céraste est plus de 50 fois moins toxique que le venin de Cobra ou le venin de Daboia, alors que pour les mammifères (lapin), sa toxicité est sensiblement la même que celle de ce dernier.

Cette innocuité très grande, du venin de Céraste pour les vairons, rendait tout particulièrement facile, la réalisation des expériences du type le plus simple, c'est-à-dire celles qui consistaient à ajouter d'emblée sérums et venins au milieu extérieur, dans lequel étaient maintenus les animaux.

Voici deux expériences, qui montrent que le sérum de chien, frais (tableau XXI) ou chauffé (tableau XXII), devient rapidement toxique pour les vairons, lorsqu'il est ajouté d'emblée au milieu extérieur, en présence de doses de venin de Céraste jusqu'à 1.500 fois inférieures à la dose mortelle.

Notons que ces expériences ont été faites à la température du laboratoire, qui oscillait, ce jour-là, entre 18° et 22°. A des températures à peine plus basses (15°-16°), la mort est beaucoup plus lente à se produire, et les doses très faibles de venin sont, nettement, moins efficaces.

En étudiant l'influence, d'une dose fixe de venin de Céraste, sur des quantités variables de sérum de chien, nous avons observé, d'autre part, qu'au-dessous d'une quantité déterminée de sérum, aucune toxicité, même tardive, n'apparaît, et nous pouvons ajouter que, dans ces conditions, le résultat reste le même, quelle que soit, en réalité, la dose de venin mise en œuvre.

Ces premiers résultats montrent déjà, que le venin ne doit intervenir dans ces expériences, qu'à la façon d'un agent cata-

TABEAU XXI

Sérum normal de Chien	Venin de Céraste	Durée de la survie des animaux
—	5 mgr.	Vivant après 48 heures
20 cc	—	id.
10 cc.	0 mgr. 5	1 h. 40.
id.	0 mgr. 25	2 h. 20.
id.	0 mgr. 1	2 h. 50.
id.	0 mgr. 05	3 h. 45.
id.	0 mgr. 025	Morts entre 5 heures et 12 heures.
id.	0 mgr. 01	
id.	0 mgr. 005	Vivant après 48 heures.
id.	0 mgr. 0025	id.

TABEAU XXII

Sérum de Chien à 36°	Venin de Céraste	Durée de la survie des animaux
10 cc.	0 mgr. 1	2 h. 20.
id.	0 mgr. 05	4 heures.
id.	0 mgr. 025	4 h. 50.
id.	0 mgr. 01	Morts entre 6 heures et 12 heures.
id.	0 mgr. 005	
id.	0 mgr. 0025	
id.	0 mgr. 001	Vivant après 24 heures.
id.	0 mgr. 0005	id.

lytique, qui libère, aux dépens du sérum, une substance toxique pour les vertébrés aquatiques. L'efficacité des petites doses avec le temps, l'influence de la température, la dépendance étroite du phénomène, avec la quantité de matières à transformer, et son indépendance relative, vis-à-vis de la quantité de venin, constituent, à cet égard, une série d'arguments, dont on ne peut contester la valeur.

Si on substitue, au sérum de chien, du sérum de cheval, les résultats, tout en restant parfaitement démonstratifs, sont, pour des quantités correspondantes de venin et de sérum, un peu moins saisissants.

Cette différence s'accuse davantage encore, lorsqu'on s'adresse au sérum de bœuf, ou au sérum de mouton, et il est de règle, qu'avec ces derniers, l'on n'obtienne la mort des animaux, qu'en augmentant les quantités de sérum employées, et en y ajoutant des doses, relativement très élevées, de venin.

Rappelons que, pour obtenir l'hémolyse avec les sérums de bœuf et de mouton, il faut employer, également, des quantités très fortes de venin, et faire disparaître, par un chauffage préalable, à une température élevée, l'obstacle qu'ils apportent naturellement (soit par leurs matières albuminoïdes, soit par d'autres produits) à l'action du ferment des phosphatides.

Le sérum de cheval, quoique déjà très attaquant aux températures ordinaires, est lui aussi plus sensible à l'action des venins, lorsqu'il a été chauffé préalablement vers 60°, et c'est un fait que l'on observe également, quoiqu'à un moindre degré, avec le sérum de chien, et dont on peut aisément se rendre compte en comparant les expériences des tableaux XXI et XXII.

Les chiffres que l'on trouvera dans le tableau suivant (tableau XXIII) montrent, en tout cas, que le sérum de cheval peut donner, avec le venin de Céraste, tout comme le sérum de chien, des mélanges très toxiques pour les vairons.

Les essais, faits dans les conditions que nous venons de préciser, réussissent toujours très aisément, lorsqu'on emploie d'autres venins, également peu toxiques pour les vertébrés aquatiques, et nous avons obtenu, avec le venin de Crotale et

TABLEAU XVIII

Sérum de Cheval	Venin de Céraste	Durée de la survie des animaux
— .	5 mgr.	Vivant après 48 heures.
30 cc.	—	id.
15 cc.	4 mgr.	2 h. 30.
id.	0 mgr. 5	5 heures
id.	0 mgr. 25	} Morts entre 8 heures et 45 heures.
id.	0 mgr. 1	
id.	0 mgr. 05	24 heures.
id.	0 mgr. 025	Vivant après 48 heures.
id.	0 mgr. 01	id.

le venin de Vipère, des résultats du même ordre que les précédents.

L'expérience est plus délicate à réaliser, lorsqu'on s'adresse à des venins, tels que le venin de Cobra ou le venin de Daboia, qui, par eux-mêmes, tuent les animaux, à des concentrations extrêmement faibles. Cependant, si on emploie des sérums très attaquables, tels que le sérum de chien, on peut encore donner à l'expérience, faite dans les mêmes conditions que précédemment, une valeur suffisamment démonstrative.

Si on ajoute, par exemple, à 10 ou 15 centimètres cubes de sérum de chien, chauffé, une quantité de venin de Cobra ou de venin de Daboia, égale à la moitié ou au quart de la dose mortelle, on observe, qu'en présence du sérum de chien, les animaux meurent toujours dans un délai qui excède rarement 6 à 12 heures, alors que les témoins restent vivants pendant plus de 24 heures.

Quand l'expérience est faite suivant le type très simple des essais précédents, il est difficile de montrer nettement, avec

TABLEAU XXIV

Sérum de Chien à 56°	Venin de Cobra	Durée de la survie des animaux
—	0 mgr. 25	4 h. 30.
—	0 mgr. 1	Vivant après 24 heures.
15 cc.	0 mgr. 1	5 h. 10.
id.	0 mgr. 05	7 h. 40.
id.	0 mgr. 025	12 à 15 heures.
id.	8 mgr. 01	Vivant après 24 heures.
id.	0 mgr. 005	id.

d'autres sérums que le sérum de chien, l'action qu'exercent sur eux, les doses hypotoxiques de venin de Cobra ou de venin de Daboia. Même en s'adressant au sérum de cheval, on n'obtient fréquemment que des résultats médiocres ou douteux. Il est toujours facile, par contre, de mettre en évidence, chez les vertébrés aquatiques, l'action des substances toxiques qui se développent, dans les sérums traités par les venins, en employant la technique que nous avons utilisée, avec M. Delezenne, dans nos recherches sur l'hémolyse. Cette technique, on se le rappelle, consiste à porter préalablement à l'étuve — c'est-à-dire dans des conditions éminemment plus favorables que les précédentes, aux actions diastasiques — les mélanges de venin et de sérum, et à ne les faire agir sur les animaux, qu'au moment où les transformations, qu'ils subissent, ont atteint leur maximum. Si la quantité de venin, mise en œuvre, a été supérieure à la dose directement mortelle, il suffit d'ajouter aux mélanges, immédiatement avant l'essai sur les animaux, une quantité de sérum antivenimeux calculée de façon à obtenir la neutralisation du venin employé.

Mais il est essentiel de se rappeler, lorsqu'on veut répéter cette expérience, que les mélanges venin-sérum subissent à

l'étuve une évolution particulière et tout à fait caractéristique. Le pouvoir hémolytique qui se développe progressivement — et, d'autant plus vite, que la dose de venin, ajoutée au sérum, est plus forte, et la température d'action, plus proche de l'optimum — disparaît lui-même, peu à peu, après avoir atteint un maximum. Les mélanges, très fortement hémolytiques à un moment donné, cessent, quelques heures ou quelques jours plus tard, d'exercer leur action nocive sur les globules.

Les mêmes faits se retrouvent, lorsqu'on étudie l'action, de ces mélanges, sur les vertébrés aquatiques. Nous pouvons en fournir un exemple des plus simples (tableau XXV), en nous adressant encore au venin de Céraste, que l'on peut, en vue d'obtenir une évolution rapide et complète des mélanges, employer à doses relativement fortes, sans avoir à craindre d'action directe sur les animaux.

TABEAU XXV

Nature des mélanges	Temps de séjour préalable à 40°	Durée de la survie des animaux
	0	2 h. 50.
Sérum de Chien 10 cc.	45 minutes.	1 h. 20.
+	1 heure.	4 heures
Venin de Céraste.	3 heures.	6 h. 25.
0 mgr. 5	6 heures.	45 à 20 heures
	12 heures.	Vivant après 24 heures.

Il résulte de cette expérience, que les propriétés toxiques, que peuvent manifester, vis-à-vis des poissons, les sérums préalablement traités par le venin, disparaissent peu à peu, quand l'action du venin se poursuit. Le phénomène est du même ordre — si toutefois il ne se confond pas avec lui — que celui dont nous avons parlé, dans le chapitre précédent, à propos de l'hémolyse. Nous avons rappelé, en outre, qu'un

mélange venin-sérum reste, au contraire, indéfiniment hémolytique, si on s'adresse à un sérum préalablement dialysé, ou si on ajoute au mélange, au moment de son activité hémolytique maxima, la dose, de sérum antivenimeux spécifique, nécessaire pour neutraliser le venin primitivement introduit. On sait que, dans ces conditions, on empêche la seconde phase du phénomène — dédoublement du produit hémolytique formé — de s'effectuer.

Tous ces faits peuvent encore être mis aisément en évidence, en s'adressant aux vertébrés aquatiques. L'expérience suivante (tableau XXVI), faite sur les têtards, en partant du venin de Cobra et du sérum de cheval, les résume, en quelque sorte, d'une façon extrêmement nette.

On a utilisé, pour cette expérience, du sérum normal de cheval, dont une partie avait été dialysée aseptiquement contre de l'eau salée à 9 0/00. A 8 centimètres cubes du sérum primitif et à 16 centimètres cubes de sérum dialysé, dont le volume initial avait doublé, on ajoute 1 milligramme de venin de Cobra. Ces mélanges sont répétés plusieurs fois, les uns reçoivent, en même temps que le venin, 2 centimètres cubes de sérum anticobra; aux autres, on n'ajoute le sérum antivenimeux qu'après un certain temps de séjour à l'étuve, ou encore au moment des essais sur les animaux. Les divers échantillons conservés à 40°, pendant des temps variables pour chacun d'eux, sont ajoutés, au moment de la mise en expérience sur les têtards, à une quantité d'eau redistillée suffisante pour obtenir un volume total de 40 centimètres cubes.

Cette expérience montre, entre autres faits, que le sérum antivenimeux spécifique, ajouté au sérum normal de cheval, en même temps que le venin, empêche tout à fait le développement des propriétés toxiques, qui se manifestent, pour les vertébrés aquatiques, dans les conditions ordinaires des expériences. Le sérum spécifique est totalement sans effet, au contraire, lorsqu'on l'ajoute au sérum normal, à la période où celui-ci a acquis, sous l'influence du venin, le maximum de ses propriétés nocives.

On voit, d'autre part, que l'addition de sérum antivenimeux, lorsqu'elle est faite à la période d'activité maxima des mélanges, permet à ces derniers de rester toxiques, alors que les mélanges

TABLEAU XXVI

État du sérum utilisé	Durée de séjour à l'étuve avant l'essai sur les têtards	Moment de l'addition de l'antitoxine spécifique	Durée de la survie des animaux
Sérum nor- mal. . .	1 heure	avant la mise à l'étuve	Vivant après 24 h.
id. . .	1 heure	à la sortie de l'étuve	3 h. 20.
id. . .	7 heures	avant la mise à l'étuve	Vivant après 24 h.
id. . .	7 heures	après une heure d'étuve	3 h. 20
Dialysé . .	1 heure	avant la mise à l'étuve	Vivant après 24 h.
id. . .	2 heures	à la sortie de l'étuve	2 h. 40
id. . .	40 heures	à la sortie de l'étuve	4 h. 50.

témoins, non additionnés de sérum antivenimeux, perdent rapidement les propriétés qu'ils ont acquises. On voit enfin que le sérum dialysé, mis à l'étuve en présence de venin, conserve indéfiniment, lui aussi, et à l'inverse du sérum normal, la toxicité qu'il acquiert, à un moment donné, pour les vertébrés aquatiques.

Entre l'évolution des propriétés hémolytiques, des mélanges venin-sérum, et l'évolution de leurs propriétés toxiques, pour les vertébrés aquatiques, apparaît donc un étroit parallélisme. S'ensuit-il que ces deux ordres de propriétés se confondent et doivent être rapportés à l'action d'un seul et même produit ? S'il n'est pas douteux que les sérums, soumis à l'action du venin, renferment une substance, douée de propriétés cytolytiques générales, une lysocithine (voir plus loin) capable d'agir, à la fois, sur des éléments cellulaires isolés, tels que les globules rouges et sur les cellules épithéliales de la peau et des branchies chez les poissons ou les têtards, il n'en suit pas nécessairement qu'il n'existe point, à côté de cette substance, des poisons d'une autre origine et d'une autre nature, que nos

connaissances actuelles ne permettent pas de séparer du premier. Ce qui pourrait faire penser qu'il en est ainsi, c'est que, d'une part, des mélanges provenant de sérums différents, et ayant sensiblement le même pouvoir hémolytique (cheval et chien) n'ont pas nécessairement la même activité, sur les vertébrés aquatiques, et que, d'autre part, dans un même mélange, on observe souvent que les propriétés toxiques apparaissent plus tardivement que les propriétés hémolytiques.

Nous devons ajouter d'ailleurs, que les essais de dissociation, que nous avons tentés, ne nous ont donné aucun résultat.

L'addition de cholestérine, aux mélanges devenus actifs, supprime, à la fois leurs propriétés hémolytiques, et leur action toxique pour les vertébrés aquatiques. Les sels, même à concentration élevée, n'agissent sensiblement ni sur l'un, ni sur l'autre phénomène, vis-à-vis desquels la température se montre, elle aussi, sans effet. Rappelons qu'indépendamment de leurs propriétés cytolytiques générales, les sérums, traités par les venins, se montrent presque totalement atoxiques pour les mammifères. Nous avons signalé antérieurement, qu'à l'encontre du vitellus de l'œuf, soumis à l'action du venin, ils peuvent être injectés dans les veines, à doses relativement fortes, sans provoquer d'accidents.

II. — TOXICITÉ DU VITELLUS DE L'ŒUF SOUMIS À L'ACTION DES VENINS

Ajouté, en petite quantité, à l'eau redistillée, dans laquelle sont maintenus les poissons ou les têtards, le vitellus de l'œuf ne se montre pas toxique pour ces animaux.

Des essais préalables, nous ont permis de constater, qu'une émulsion, préparée au même titre que celles dont nous nous étions servis précédemment, M. DELEZENNE et moi, pour les recherches sur l'hémolyse (un vitellus d'œuf soit environ 20 cc., est émulsionné dans de l'eau salée à 9 0/00, de façon à obtenir un volume total de 50 cc.), peut être ajoutée impunément

à la dose de 3 à 5 centimètres cubes, aux 150 centimètres cubes d'eau redistillée, qui constituent le milieu initial, dans lequel nous maintenions les poissons. Pour les têtards il était utile de ne pas dépasser 2 à 3 centimètres cubes d'émulsion pour 50 centimètres cubes d'eau. Ce n'est pas, que des doses plus fortes d'émulsion soient immédiatement toxiques par elles-mêmes, mais elles constituent un milieu, éminemment favorable à la pullulation microbienne, et dans lequel les animaux résistent difficilement plus de 24 heures. Aux doses, que nous avons employées, et qui étaient, en général, notablement inférieures à celles que nous venons d'indiquer, les animaux pris comme témoins, pour les essais avec les venins, ont toujours survécu de 36 à 48 heures.

Si on ajoute, au milieu extérieur, dans lequel sont maintenus les animaux, une petite quantité d'émulsion de vitellus d'œuf, 3 à 4 centimètres cubes par exemple, et une dose de venin de Céraste, 20 à 30 fois inférieure à la dose mortelle, on constate que les animaux succombent en un temps très court :

TABEAU XXVII

Emulsion de vitellus d'œuf	Venin de Céraste	Durée de la survie des animaux
5 cc.	—	Vivant après 24 heures.
id.	0 mgr. 5	1 h. 50.
id.	0 mgr. 25	3 h. 45.
id.	0 mgr. 1	4 h. 20.
id.	0 mgr. 05	6 h. 40.
id.	0 mgr. 025	10 heures.
id.	0 mgr. 01	12 à 24 heures.
id.	0 mgr. 005	Vivant après 24 heures.

les vairons, par exemple, résistent rarement plus de une à deux

heures ; avec des doses de venin, beaucoup plus faibles encore, et près de 500 fois inférieures à la dose mortelle, la mort, quoique plus lente à se produire, survient presque invariablement au bout de 6, 8 ou 12 heures. C'est ce que montre l'expérience ci-dessus (Tableau XXVII).

On peut obtenir des résultats du même ordre, en substituant, au venin de Céraste, l'un quelconque des venins que nous avons étudiés. Il suffit simplement de se rappeler, que quelques-uns d'entre eux (Cobra, Daboia, Trimeresurus), qui sont directement très nocifs pour les vertébrés aquatiques, ne peuvent être ajoutés au milieu, qu'à dose très faible.

Ce serait multiplier inutilement les protocoles des expériences, faites suivant le type que nous venons d'indiquer, que d'en rapporter d'autres. D'ailleurs, si on met à part l'activité variable, que présentent les venins employés, ces divers protocoles seraient, en quelque sorte, superposables.

Ce qu'il est plus important d'essayer de montrer, d'une façon nette, c'est que l'action des venins sur le vitellus de l'œuf, relève bien d'un processus diastasique.

Les diastases des venins, nous le savons par nos recherches antérieures, sont relativement peu actives, aux températures inférieures à 40°. A 18°-20°, température que nous ne pouvions guère dépasser, dans les expériences du type que nous venons de rapporter, la vitesse de réaction est, pour ainsi dire, réduite au minimum, et si l'on obtient des résultats positifs, cela est dû à ce que, le plus souvent, les doses efficaces de venin, quoique très faibles en apparence, sont, en fait, déjà infiniment multipliées.

Les transformations, qui se produisent, à la température ordinaire, sont suffisantes, il est vrai, pour se traduire par des phénomènes toxiques. Mais les produits formés sont, en réalité, par rapport à la masse d'émulsion utilisée, en très faible quantité. Pour obtenir la mort des animaux, il faut ajouter au milieu, en effet, 2, 3 et quelquefois même, 5 centimètres cubes d'émulsion.

Si on porte, au contraire, les mélanges, pendant un certain

temps, à l'étuve, avant de les éprouver, on constate que, même en utilisant des doses plus faibles de venin, ils ne tardent pas à manifester une toxicité beaucoup plus grande. Quand celle-ci a atteint son maximum, on peut observer la mort rapide des animaux, avec des quantités d'émulsion 30, 60 et même 100 fois plus faibles que dans les expériences précédentes.

Faisons remarquer, à ce propos, qu'il est toujours facile d'observer la toxicité maximale des mélanges vitellus-venin, puisque ceux-ci, à l'encontre des mélanges venin-sérum, ne subissent pas l'évolution qui caractérise ces derniers, et qui se termine par une phase d'inactivité complète.

L'expérience ci-dessous (tableau XXVIII), faite sur les vairons, montre précisément la toxicité d'un mélange vitellus-venin de Céraste, après 12 heures de séjour à l'étuve à 50°. Les chiffres de la seconde colonne correspondent aux quantités de venin, contenues dans les différentes doses d'émulsion employées.

TABEAU XXVIII

Vitellus d'œuf	Venin de Céraste	Durée de la survie des animaux
2 cc.	0 mgr. 04	50 minutes.
1 cc.	0 mgr. 005	1 h. 40.
0 cc. 5	0 mgr. 0025	2 h. 30.
0 cc. 25	0 mgr. 00125	2 heures.
0 cc. 1	0 mgr. 0005	5 heures.
0 cc. 05	0 mgr. 00025	7 h. 50.
0 cc. 025	0 mgr. 000125	Vivant après 48 heures.
0 cc. 1	0 mgr. 00005	id.

On peut diminuer davantage encore les quantités de venin, si on donne, à la diastase, le temps d'effectuer la transformation complète des matériaux d'où dérivent les produits toxiques.

Cependant nous n'avons pu réussir à atteindre les doses limites (0 milligr. 0001 de venin de Cobra, par exemple, pour 1 centimètre cube de vitellus d'œuf) qui nous avaient encore donné, dans les expériences sur les mammifères, des mélanges très toxiques pour le lapin.

Rappelons, que le principe diastasique du venin ne disparaît pas des mélanges devenus toxiques, et qu'il est possible, après l'avoir séparé (en éloignant les produits de transformation et en précipitant le résidu par l'alcool absolu), de le faire agir sur une nouvelle quantité de vitellus d'œuf. D'autre part, comme les mélanges venin-sérum, les mélanges venin-vitellus, qui ont acquis toute leur activité, ne sont pas neutralisés par les sérums antivenimeux spécifiques. Mais ces derniers s'opposent totalement, en vertu de leurs propriétés antifermentaires, aux transformations provoquées par les venins. En effet, si on les ajoute aux mélanges, à l'origine, c'est-à-dire en même temps que le venin, ils empêchent, d'une façon définitive, l'apparition des propriétés toxiques, qui, dans les conditions habituelles, se manifestent, si nettement, vis-à-vis des vertébrés aquatiques.

Nous avons rappelé plus haut, que cette action neutralisante des sérums antivenimeux, vis-à-vis des diastases des venins, est spécifique.

Cette spécificité de l'action antidiastasique des sérums antivenimeux, peut être démontrée, avec la plus grande netteté, en utilisant les vertébrés aquatiques.

Il est intéressant de comparer, à cet égard, l'expérience ci-dessous (tableau XXIX), à celles qui sont rapportées dans le chapitre V et qui ont trait à l'action empêchante des mêmes sérums sur les effets directs des venins chez les poissons.

A une série de tubes renfermant 10 centimètres cubes d'émulsion d'œuf, on ajoute divers venins, à la dose de 0 mgr. 1. On fait une seconde série, semblable à la première, dans laquelle on introduit, outre les venins, une ou deux doses neutralisantes de divers sérums antivenimeux; on porte à 50°, et, après 12 heures, on évalue la toxicité des mélanges, pour les

vairons, en ajoutant au milieu extérieur une quantité fixe d'émulsion, soit 1 centimètre cube.

TABLEAU XXIX

Nature du venin	Nature du sérum antivenimeux	Durée de la survie des animaux
Cobra	—	1 h. 30.
id.	Sérum anti-cobra	Vivant après 24 heures.
id.	Sérum anti-daboia	1 h. 40.
Daboia	—	1 h. 50.
id.	Sérum anti-daboia	Vivant après 24 heures.
id.	Sérum anti-cobra	1 h. 35.
Céraste	—	1 h. 40.
id.	Sérum anti-cobra	2 h. 10.

Les données, que nous avons exposées dans le chapitre précédent, sur la nature des transformations subies par le vitellus d'œuf soumis à l'action des venins, conduisaient à penser que la substance, à laquelle doit être rapportée, au moins pour la plus grande part, la toxicité des mélanges vitellus-venin pour les vertébrés aquatiques, n'est autre que la lysocithine. Nous montrerons en détail un peu plus loin, qu'il en est bien ainsi, mais nos recherches ne nous permettent point d'affirmer qu'il n'existe pas, à côté de cette substance, d'autres principes actifs dont l'action se surajoute à celle de la lysocithine. Nous avons vu, qu'indépendamment de ses propriétés cytolytiques générales, le vitellus d'œuf traité par le venin manifeste une grande toxicité pour le lapin, lorsqu'il est injecté dans les veines de cet animal. Rien ne permet de supposer que le produit toxique hypothétique, qui agit dans ces conditions, soit capable d'intervenir, sur les vertébrés aquatiques, par l'intermédiaire du milieu extérieur. La toxicité considérable, de la lysocithine elle-même, peut d'ailleurs suffire à expliquer l'ensemble des phénomènes observés.

CHAPITRE IX

Action de la lysocithine isolée sur les vertébrés aquatiques

I. — TOXICITÉ DE LA LYSOCITHINE. — ANTAGONISME DE LA CHOLESTÉRINE

Nous avons vu précédemment que le produit hémolytique, engendré par l'action du venin sur le vitellus de l'œuf, est un dérivé de la lécithine, un éther palmitophosphoglycérique de la choline, auquel MM. DELEZENNE et FOURNEAU ont donné le nom de lysocithine.

Nous n'avons pas à revenir sur l'étude de la préparation, de la constitution et des propriétés biologiques essentielles de la lysocithine. Qu'il nous suffise de rappeler que cette substance, qui est un agent hémolytique direct d'une très grande activité, ne limite pas son action aux seuls globules rouges, mais qu'elle est capable de dissoudre, ou d'altérer profondément, les éléments cellulaires des tissus ou des organes, avec lesquels elle est mise directement en contact.

Il était légitime de penser, que c'est aux propriétés cytolytiques de cette substance, qu'il fallait attribuer les effets toxiques si intenses, que manifeste, vis-à-vis des vertébrés aquatiques, le vitellus d'œuf soumis à l'action des venins. Quelques expériences très simples nous ont montré qu'il en était bien ainsi.

La lysocithine pure, dissoute dans l'eau redistillée — qui constitue le milieu extérieur, dans lequel nous maintenons les poissons ou les têtards — se montre extraordinairement nocive pour ces animaux. A des concentrations très faibles,

et dont la limite inférieure est au voisinage de $\frac{1}{450000}$ pour les vairons, de $\frac{1}{50000}$ pour les têtards, elle tue habituellement les animaux en une à deux heures, au plus. Les concentrations, trois ou quatre fois plus fortes, déterminent la mort en 15 à 20 minutes, mais ce délai ne peut guère être raccourci, même en augmentant considérablement les quantités de lysocithine, dont on veut éprouver l'action. A des concentrations inférieures, au contraire, on n'observe aucun phénomène, et les animaux résistent toujours, aussi longtemps que les témoins.

Voici les résultats de deux expériences, prises au hasard parmi beaucoup d'autres, qui mettent nettement en évidence la toxicité de la lysocithine pour les vairons et les têtards.

TABEAU XXX

Titre des solutions de lysocithine	Durée de survie des animaux	
	Vairons	Têtards
$\frac{1}{10000}$	20 minutes	40 minutes.
$\frac{1}{20000}$	32 minutes	1 heure.
$\frac{1}{50000}$	45 minutes	2 h. 15.
$\frac{1}{100000}$	40 minutes	Vivant après 24 heures.
$\frac{1}{150000}$	2 h 30	id.
$\frac{1}{200000}$	Vivant après 24 heures	id.

Que la mort des vertébrés aquatiques, plongés dans une solution de lysocithine, soit bien le fait de l'action cytolytique directe, de cette substance, sur les éléments cellulaires avec

lesquels elle entre en contact, et qui constituent, chez les animaux, les membranes limitantes externes, cela ne peut faire aucun doute. On observe, en effet, très peu de temps après que les animaux ont été soumis à l'action de la lysocithine, une desquamation intense du revêtement cutané et des muqueuses de la bouche et des ouïes ; la chute de l'épithélium branchial, qui a perdu toute structure, amène bientôt la formation d'une sorte de bouchon muqueux, dont l'animal s'efforce en vain de se débarrasser, et qui augmente, davantage encore, les phénomènes asphyxiques, dus à la diminution et à l'arrêt des échanges gazeux, au niveau de la peau et des branchies. Les animaux succombent à un défaut d'hématose, qui résulte exclusivement de l'altération des membranes respiratoires, car le sang lui-même ne paraît pas touché, et à l'autopsie les globules rouges, avec lesquels le poison n'a pu d'ailleurs entrer en contact, offrent un aspect tout à fait normal.

Un caractère essentiel distingue l'action, exercée par la lysocithine sur les vertébrés aquatiques, de l'action directe des venins sur les mêmes animaux : alors que les phénomènes toxiques, provoqués par ces derniers, peuvent être empêchés, très aisément, par l'addition, au milieu extérieur, de certains sels, et en particulier des sels de calcium, les effets habituels de la lysocithine ne sont nullement modifiés par les variations de composition saline du milieu extérieur : si des venins, tels que le venin de Cobra ou de Daboia par exemple, sont déjà beaucoup moins nocifs dans l'eau de source que dans l'eau redistillée, et s'il suffit, d'autre part, d'une quantité de CaCl^2 , qui ne dépasse pas la concentration $\frac{\text{N}}{300}$, pour empêcher totalement leurs effets sur les vairons, par exemple, on constate, par contre, que la lysocithine tue sensiblement à la même dose, qu'elle soit dissoute dans l'eau redistillée, dans l'eau de source ou dans une solution de CaCl^2 de titre plus ou moins élevé.

La substitution, à CaCl^2 , d'un sel soluble quelconque de métal alcalin ou alcalino-terreux, ne modifie pas, davantage, la toxicité de la lysocithine. Ces faits sont à retenir, non seulement parce

qu'ils mettent en lumière l'influence, toute différente, qu'exercent, les variations de la composition saline du milieu, sur les venins, et sur les poisons qui dérivent de leur action, mais encore en raison de l'application, que nous aurons à en faire plus loin, à l'étude comparée, des effets de la lysocithine ou des glycosides toxiques, sur les vertébrés aquatiques.

TABEAU XXXI

Titre des solutions de lysocithine	Concentration saline du milieu	Durée de la survie des animaux
1 50000	—	55 minutes.
id.	$\text{NaCl } \frac{N}{100}$	1 h. 40.
id.	$\text{NaCl } \frac{N}{50}$	1 heure.
id.	$\text{NaCl } \frac{N}{20}$	45 minutes.
id.	$\text{CaCl}_2 \frac{N}{100}$	1 h. 5.
id.	$\text{CaCl}_2 \frac{N}{50}$	40 minutes.
id.	$\text{MgCl}_2 \frac{N}{50}$	1 heure.
id.	$\text{MgCl}_2 \frac{N}{20}$	1 h. 20.

L'expérience précédente (tableau XXXI), dans laquelle on a fait agir la lysocithine, dans divers milieux salins, sur les vairons, fournit un exemple très net de l'indifférence de cette substance à l'égard des sels.

Si l'action directe des venins sur les vertébrés aquatiques, est facilement empêchée par l'adjonction, au milieu, d'une dose convenable de sérum antivenimeux spécifique, les effets

de la lysocithine ne sont, par contre, nullement modifiés par le sérum antivenimeux, capable de neutraliser directement le venin qui lui a donné naissance. Dans la pratique la lysocithine pure, que nous avons employée, provenait de l'action du venin de Cobra sur le vitellus de l'œuf. Cette lysocithine, qui ne paraît pas se différencier, de celle que l'on peut obtenir avec tout autre venin, ne se comportait pas différemment sur les vertébrés aquatiques, qu'elle fût ajoutée au milieu extérieur en présence d'un sérum anti-cobra, ou d'un sérum normal ou préparé quel qu'il fut.

Le sérum normal manifeste, d'ailleurs, vis-à-vis de la lysocithine, des propriétés neutralisantes, qu'il ne possède pas ou qu'il ne possède qu'à un très faible degré, vis-à-vis des venins eux-mêmes.

Si on ajoute, au milieu extérieur, en présence d'une ou plusieurs doses mortelles de lysocithine, une certaine quantité de sérum normal de cheval, par exemple, on constate, qu'à partir d'une dose convenable, les animaux ne présentent aucun phénomène et survivent aussi longtemps que les témoins. Le sérum reste efficace, même après chauffage à température élevée, et ses propriétés neutralisantes ne sont point, d'autre part, modifiées par la dialyse. Le principe actif du sérum, qui intervient, pour empêcher les effets habituels de la lysocithine, n'est autre que la cholestérine, qui, nous l'avons vu, est, elle-même, totalement inactive sur la plupart des venins, et, tout au moins sur le venin de Cobra.

Nous ne nous arrêterons pas sur les expériences qui permettent de démontrer, que l'agent actif du sérum normal est bien la cholestérine ; il nous suffira de prouver, par quelques exemples très simples, que la cholestérine pure, ajoutée à très faible dose, au milieu extérieur, peut entraver complètement les effets de la lysocithine sur les vertébrés aquatiques.

Comme le montre l'expérience ci-après (tableau XXXII), qui a été faite sur les vairons, il suffit de minimes quantités de cholestérine, pour protéger définitivement les animaux, contre les effets toxiques de la lysocithine. En présence de cholestérine, les

animaux ne montrent aucun trouble, et la desquamation, si intense, de l'épithélium cutané et branchial, qui se produit en présence de lysocithine seule, ne s'observe pas.

Si on étudie, de plus près, les conditions de l'action neutralisante de la cholestérine sur la lysocithine, on constate aisément que, si on augmente la quantité de lysocithine, il suffit d'augmenter parallèlement, et dans le même rapport, la quantité de cholestérine, pour obtenir la survie des animaux. Des multiples essais, que nous avons fait, il paraît résulter, nettement, qu'une molécule de cholestérine suffit à neutraliser complètement, les effets d'une molécule de lysocithine. Etant donné que, le poids moléculaire de la cholestérine est de 390,

TABEAU XXXII

Espèce animale	Titre de la solution de lysocithine	Richesse du milieu en cholestérine	Durée de la survie des animaux
Vairons	$\frac{1}{50000}$	—	1 h. 40.
	id.	6 mgr.	Vivant après 24 heures
	id.	4 mgr.	id.
	id.	2 mgr.	id.
	id.	1 mgr.	2 h. 40.
Têtards	$\frac{1}{20000}$	—	1 h. 20.
	id.	12 mgr.	Vivant après 24 heures.
	id.	8 mgr.	id.
	id.	6 mgr.	12 à 15 heures
	id.	4 mgr.	1 h. 15.

alors que celui de la lysocithine est de 500 environ, il devait suffire, si réellement la neutralisation se fait molécule à molécule, d'une quantité de cholestérine, un peu inférieure aux $\frac{4}{5}$

de la dose de lysocithine mise en œuvre, et c'est précisément ce qu'a montré l'expérience. Nous pouvons ajouter que, le plus souvent, on a pu obtenir, sinon la neutralisation définitive de la lysocithine, du moins un retard plus ou moins considérable de la mort, en utilisant des quantités de cholestérine qui étaient même, sensiblement plus faibles. Le tableau suivant montre comment s'effectue la neutralisation de la lysocithine par la cholestérine, lorsqu'on met en présence des animaux, des multiples de la dose minima mortelle de lysocithine, multiples pouvant la répéter jusqu'à 20 ou 30 fois.

TABEAU XXXIII

Quantité de lysocithine	Quantité de cholestérine	Durée de la survie des animaux
3 mgr.	—	25 minutes.
id.	2 mgr. 5	Vivant après 24 heures.
id.	4 mgr. 25	12 à 15 heures.
id.	0 mgr.	30 minutes.
12 mgr.	—	20 minutes.
id.	10 mgr.	Vivant après 24 heures.
30 mgr.	—	14 minutes.
id.	25 mgr.	Vivant après 24 heures.

Ces faits sont superposables à ceux, dont nous avons parlé, dans un précédent chapitre, relativement à l'action antagoniste de la cholestérine, sur les propriétés hémolytiques de la lysocithine. Dans ce cas particulier, la neutralisation paraît se faire également molécule à molécule, et les recherches chimiques de MM. DELEZENNE et FOURNEAU, ont permis d'établir, qu'en fait, la lysocithine et la cholestérine forment une véritable combinaison moléculaire, dénuée de toute propriété hémolytique.

Nous avons vu, d'autre part, que c'est à l'hygrophilie considé-

nable, de ce composé cholestérine-lysocithine, qu'il faut vraisemblablement attribuer la destruction globulaire, que provoque la lysocithine. C'est sans doute, encore à un phénomène du même ordre, qu'il faut rapporter les effets de la lysocithine sur les vertébrés aquatiques. Dans cette conception, la cytolysé de l'épithélium des membranes limitantes, aurait comme *primum-movens* l'affinité de la cholestérine endocellulaire pour la lysocithine. L'action protectrice, exercée par la cholestérine, ajoutée au milieu extérieur, s'expliquerait aisément, si l'on admet qu'en s'unissant à la lysocithine, dans ce milieu, la cholestérine empêche cette substance de pénétrer dans la cellule, et d'exercer ses effets nocifs.

Nous tenons à faire remarquer d'ailleurs que cette hypothèse ne diffère pas sensiblement de celle qui fut émise par RANSOM (1), il y a quelques années, pour expliquer l'action antagoniste de la cholestérine sur les glycosides hémolytiques et en particulier sur la saponine.

II. — ACTION COMPARÉE DE LA LYSOCITHINE ET DES GLYCOSIDES HÉMOLYTIQUES

Si on compare les propriétés biologiques essentielles de la lysocithine, à celles d'autres substances toxiques, on est immédiatement frappé des analogies très étroites, qui permettent de rapprocher la lysocithine, des glycosides toxiques du groupe de la saponine.

Mis en présence des globules rouges, les glycosides tels que la saponine, la solanine, la cyclamine, la digitonine, etc., déterminent, à faibles doses, l'hémolyse rapide et complète de ces éléments. Leur action, comme celle de la lysocithine, s'effectue indifféremment, aux températures basses ou à la température de l'étuve, et n'est très sensiblement influencée que par un seul agent, qui est la cholestérine.

(1) RANSOM. *Deutsch. Med. Wochensch.*, 1904.

Ajoutés au milieu extérieur, dans lequel sont maintenus les vertébrés aquatiques, ces glycosides, se montrent, d'autre part, très toxiques, pour ces animaux. On sait, depuis longtemps, que les petits poissons et les têtards succombent très rapidement, lorsque l'eau contient une faible proportion de cyclamine. Déjà VULPIAN (1) attribuait la mort aux troubles des fonctions respiratoires et cutanées, par suite de l'altération, de l'épiderme du tégument, et de l'épithélium des branchies. HÉDON (2), qui a fait des recherches systématiques sur les effets des glycosides sur les poissons, a étudié, tout spécialement à ce point de vue, outre la cyclamine, deux autres glycosides, la saponine et la solanine. Il a constaté, que c'est bien en provoquant une altération de l'épithélium des membranes limitantes, et tout spécialement de la membrane branchiale, que les glycosides exercent leurs effets toxiques sur les poissons. Il a observé en outre que le sérum sanguin et la cholestérine — dont les effets antitoxiques furent mis en évidence dans l'intervalle, par RANSOM (3), dans ses études sur l'hémolyse — manifestent en addition au milieu extérieur, une action antagoniste puissante, vis-à-vis de ces poisons. Il n'est pas inutile, pour compléter le rapprochement, de rappeler que la cholestérine forme également, avec les glycosides, un composé d'addition moléculaire totalement inactif (WINDAUS) (4).

Au point de vue de leur activité, sur les vertébrés aquatiques maintenus en milieu d'eau redistillée, les glycosides se montrent, pour la plupart tout au moins, nettement inférieurs à la lysocithine. Les essais comparatifs, que nous avons fait à ce sujet, en utilisant les têtards, nous ont montré que la saponine, par exemple, est environ huit fois moins toxique, pour ces animaux, que la lysocithine. La cyclamine, qui paraît être le glycoside le plus nocif, a une activité à peine inférieure à celle de la lysocithine.

1. VULPIAN. *C. R. Soc. de Biol.*, t. X, p. 74, 1858 et t. XI, p. 495, 1859.

2. HÉDON. *C. R. Soc.*, 1900, p. 771 et 1901, p. 391 ; *Arch. intern. de Pharmacod. et de Therap.*, t. VII, 1901, p. 380 et t. IX, 1901, p. 229.

3. RANSOM. *loc. cit.*

4. WINDAUS. *Ber. de Deutsch Chem. Ges.*, t. XLII, p. 238, 1909.

Si, par les quelques caractères que nous venons de passer en revue, la lysocithine et les glycosides toxiques méritent d'être rapprochés, il en est un, au contraire, qui les différencie très nettement.

A l'encontre de la lysocithine, qui, nous l'avons vu plus haut, se montre tout à fait indifférente aux variations, de la composition saline du milieu extérieur, les glycosides voient leur activité, très fortement renforcée par la présence des sels.

Etudiant comparativement la toxicité d'une série de poisons, en solution dans l'eau redistillée, ou en solution dans l'eau de mer, pour le *Fundulus heteroclitus*, TORALD SOLLMANN (1) avait déjà observé que la saponine tue plus sûrement, et à de plus faibles doses, dans l'eau de mer, que dans l'eau distillée. Reprenant l'étude de cette question, nous avons constaté qu'il suffit d'ajouter à l'eau redistillée, dans laquelle sont maintenus les têtards, par exemple, une dose infime de NaCl pour augmenter, dans de fortes proportions, la toxicité de la saponine. Cette substance, qui ne tue jamais les têtards à la concentration de $\frac{1}{10000}$, et qui ne détermine la mort, qu'au bout de 12 à 15 heures à la concentration de $\frac{1}{5000}$, peut tuer les têtards en moins d'une heure, à la concentration de $\frac{1}{30000}$, si le milieu est constitué par une solution de NaCl $\frac{N}{100}$.

Sans être aussi fortement influencée, la cyclamine voit également sa toxicité doublée ou triplée, par l'addition d'une faible quantité de NaCl.

NaCl peut, d'ailleurs être remplacé par d'autres sels solubles de Na, ou de tout autre métal alcalin ou alcalino-terreux (non toxiques par eux-mêmes), sans que les résultats soient sensiblement modifiés. CaCl^2 et MgCl^2 se sont même montrés encore plus efficaces que NaCl.

Nous ne pouvons insister davantage sur ces faits, sans sortir

(1) TORALD SOLMANN. *Americ. Journ. of. Physiol.*, t. XVI, 1906, p. 4.



Jeantet, Phot.

Cristaux de Lysocithine séparés d'un mélange d'alcool et d'éther de pétrole (Gr. 240 D.)

(C. DELEZENNE et E. FOURNEAU. *Bull. Soc. Chim.*, 5 mai 1914).

des limites de notre sujet, mais il était intéressant, cependant, de signaler, en passant, cette action renforçante des sels sur les glycosides, dont une étude plus approfondie donnera peut-être l'explication.

Ces expériences montrent, d'autre part, combien de faibles variations de composition saline, du milieu extérieur, peuvent modifier, très différemment, l'activité de divers poisons, qui exercent, cependant, les mêmes effets physiologiques. L'étude comparée de l'action toxique des venins, de la lysocithine, et des glucosides, nous fournit, à cet égard, trois exemples en quelque sorte, typiques. Si la lysocithine reste totalement indifférente, aux variations de la composition minérale, du milieu extérieur, les venins voient leur activité, considérablement entravée, par la présence de certains sels en très faible quantité, tandis que les glycosides, au contraire, ont leurs effets toxiques notablement renforcés, lorsqu'ils peuvent agir en association avec les sels.

C'est vraisemblablement en modifiant les conditions de pénétration des poisons dans les éléments cellulaires, qu'intervient, si différemment, de faibles variations de composition saline du milieu extérieur.

Il est intéressant de noter que, dans les conditions d'expériences très simples, où nous nous sommes placés, la lysocithine est le seul poison qui paraît échapper totalement à ces influences.

CHAPITRE X

Sur l'action antidiastatique des sérums des serpents.

Sa spécificité

Au cours d'une nouvelle série de recherches, que nous avons entreprises récemment M. DELEZENNE et moi, sur les conditions qui favorisent ou empêchent l'activité des diastases des venins, nous avons eu la possibilité, ayant à notre disposition plusieurs espèces de serpents, reçus vivants au laboratoire, de pouvoir aborder l'étude de l'action du sérum de ces animaux, sur les ferments des venins. Ces recherches, qui sont encore en cours, nous ont cependant donné des résultats, dont quelques-uns méritent d'être brièvement mentionnés à la fin de ce travail.

Nous avons observé, en effet, que le sérum des serpents possède une action antidiastatique, extraordinairement intense, vis-à-vis de quelques ferments des venins, et que cette action est très nettement spécifique.

Nous nous bornerons à résumer les résultats essentiels de nos recherches, relatifs à l'action qu'exercent les sérums de serpents, sur les diastases qui engendrent les produits toxiques, dont nous venons de faire l'étude. Nous avons étudié, tout particulièrement, deux sérums : le sérum de *Naja haje* ou Cobra africain et le sérum de *Cerastes cornutus* ou Vipère à cornes.

Les sérums, recueillis par saignée aseptique dans la carotide, étaient utilisés, après dépôt des globules et centrifugation, soit tels quels, soit après chauffage à 56°-58° pendant une heure.

L'expérience nous a montré que, si on ajoute à du sérum de cheval, du sérum de chien, ou du vitellus de l'œuf, en même temps qu'une dose quelconque de venin de *Naja haje*, une quantité convenable de sérum, provenant du même animal, les mélanges n'acquièrent aucune de leurs propriétés habituelles : ils sont dépourvus de toute activité hémolytique, ils sont atoxiques pour le lapin, en injection intraveineuse, et se montrent inoffensifs pour les vertébrés aquatiques, lorsqu'ils sont ajoutés au milieu extérieur où sont maintenus ces animaux.

Si on détermine la dose neutralisante de sérum, on la trouve très faible, et cinq à dix fois inférieure à celle d'un sérum spécifique, préparé par immunisation, soit en l'espèce un sérum de cheval anti-cobra. Il nous a suffi, en effet, le plus souvent, de 0 cc. 2 à 0 cc. 3 de sérum de *Naja* pour neutraliser totalement 1 milligramme de venin correspondant.

Si on substitue dans les mélanges, au sérum de Cobra, une dose double, triple, voire même dix fois plus forte de sérum de Céraste, de sérum de Couleuvre, ou encore de sérum provenant d'une toute autre espèce de reptile (tortue), on constate que les substances toxiques, que le venin peut engendrer, apparaissent comme à l'ordinaire.

Ajouté à du sérum de chien ou à du vitellus d'œuf, en même temps que du venin de Céraste, le sérum de Céraste exerce, lui aussi, une action neutralisante, à dose très faible (0 cc. 3 environ par milligramme de venin), mais l'addition de sérum de Céraste, à un mélange renfermant du venin de *Naja haje*, reste tout à fait sans action.

Le sérum de Cobra africain neutralise les effets du venin de Cobra indien, mais il est tout à fait sans action sur les venins de Daboia, de *Trimeresurus*, de *Vipera aspis*, etc.

Le sérum de Vipère à cornes peut neutraliser aisément le venin de *Cerastes Vipera*, espèce très voisine de *Cerastes cornutus*, mais il est, lui aussi, sans effet sur les venins de Daboia et de *Trimeresurus*.

Il est très facile de mettre en évidence ces actions neutralisantes, en s'adressant encore aux vertébrés aquatiques.

Que l'expérience soit faite en utilisant le sérum de chien, mis d'emblée en présence des vairons, avec le venin et les sérums de reptiles dont on veut étudier l'action, ou que l'on utilise des mélanges de vitellus d'œuf et de venin, portés au préalable à l'étuve, l'expérience donne toujours des résultats en quelque sorte schématiques.

Nous nous bornerons à en rapporter deux, faites précisément sur les vairons, l'une avec le sérum du chien, renfermant une dose sûrement efficace de venin de Céraste et des quantités variables de différents sérums de reptiles ; l'autre avec du vitellus d'œuf, porté au préalable à l'étuve à 50°, en présence de venin de *Naja*, de venin de Daboia, de venin de Céraste et de Trimeresurus, et de diverses doses de sérum de *Naja* (tableaux XXXIV et XXXV).

TABEAU XXXIV

Sérum de chien	Venin de Céraste	Nature, et quantité de sérums de reptiles, ajoutés	Durée de la survie des animaux
10 cc . . .	0 mgr. 5	—	2 heures.
id. . . .	id.	Céraste 0 cc. 2	Vivant après 48 h.
id. . . .	id.	Naja 0 cc. 2	2 h. 10
id. . . .	id.	Naja 0 cc. 5	2 h. 30.
id. . . .	id.	Couleuvre 1 cc	2 h. 40.
id. . . .	id.	Tortue 1 cc.	2 heures.

Que cette action, des sérums de serpents, soit exclusivement attribuable à leurs propriétés antidiastases, cela ne peut faire aucun doute. L'expérience montre, en effet, que dans le vitellus d'œuf additionné de venin et d'une dose convenable de sérum correspondant, la lécithine ne subit aucune transforma-

TABLEAU XXXV

Vitellus d'œuf	Nature et quantité des venins employés	Quantités de sérum de Naja ajouté	Durée de la survie des animaux
1 cc. . . .	Naja 0 cc. 01	—	50 minutes.
id. . . .	Naja 0 cc. 01	0 cc. 003	Vivant après 24 h
id. . . .	Céraste 0 cc. 01	0 cc. 03	1 heure
id. . . .	Daboia 0 cc. 01	0 cc. 03	1 h. 20
id. . . .	Trimeresurus 0 cc. 01	0 cc. 03	55 minutes.
id. . . .	id. 0 cc. 01	0 cc. 3	1 h. 05.

tion. D'autre part l'antidiastase, qui résiste à un chauffage relativement élevé (1 heure à 60°-65°), est détruite, comme tous les antiferments, à la température d'ébullition.

Les propriétés antifermentaires, des sérums de serpents, que les expériences, que nous venons de brièvement rapporter, mettent très nettement en évidence, suffisent-elles à expliquer l'immunité naturelle, dont jouissent les reptiles, vis-à-vis de leur propre venin ? Cette question, qui sort des limites de notre sujet, sera traitée en détail ailleurs ; qu'il suffise de mentionner ici que, s'il est difficile, souvent même impossible, de protéger les mammifères, contre les effets d'un venin déterminé, par l'injection du sérum de serpent qui lui correspond, on réussit très aisément à protéger les vertébrés aquatiques contre les effets directs des venins, même très neurotoxiques, comme le venin de Cobra, en ajoutant, dans le milieu extérieur, une très faible dose de sérum de serpent correspondant.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Les vertébrés aquatiques (poissons d'eau douce et larves de batraciens) ont été utilisés, dans ce travail, pour l'étude de l'action des venins et des poisons qu'ils engendrent, quand les uns ou les autres sont simplement ajoutés au milieu extérieur.

a) Après avoir précisé, dans une étude préliminaire, les conditions de milieu, qui conviennent à la vie des êtres envisagés, nous avons, dans la première partie du travail, déterminé la toxicité de divers venins pour les poissons et les têtards, maintenus en milieu d'eau redistillée, en milieu d'eau de source, ou dans des solutions salines de composition déterminée. A cet égard, nous avons insisté, tout particulièrement, sur l'action empêchante, qu'exercent de petites quantités de chaux, sur l'intoxication des vertébrés aquatiques par les venins.

Nous avons montré, en outre, qu'il est facile, par la méthode d'étude que nous avons employée, de mettre en évidence l'action neutralisante spécifique des sérums antivenimeux, et l'inactivité de la cholestérine, sur les phénomènes d'intoxication directe, provoqués par les venins.

b) Dans la seconde partie de notre travail, qui est consacrée à l'étude des poisons engendrés par les venins, nous avons exposé, tout d'abord, les résultats des recherches antérieures, que nous avons poursuivies sur cette question, en collaboration avec M. DELEZENNE. Dans cet exposé nous insistons particulièrement sur les expériences, qui démontrent que, par simple action catalytique, les venins peuvent libérer, aux dépens

du sérum ou du vitellus de l'œuf, des poisons extrêmement nocifs, pour les globules rouges et les éléments cellulaires avec lesquels ils sont mis directement en contact.

Reprenant l'étude de ces poisons, nous établissons qu'il est facile de les mettre en évidence par la technique très simple que nous avons choisie. Il suffit, pour cela, d'ajouter au milieu extérieur, où sont maintenus les vertébrés aquatiques, une quantité convenable de sérum ou de vitellus d'œuf en même temps qu'une dose atoxique de venin.

L'un de ces poisons, le seul qui ait été caractérisé chimiquement, la lysocithine (DELEZENNE et FOURNEAU), se montre tout particulièrement toxique pour les poissons ou les têtards. Son action sur ces animaux, qui est empêchée par l'addition au milieu, d'une dose convenable de cholestérine, peut être rapprochée, à quelques égards, de l'action bien connue des glycosides toxiques, mais elle s'en différencie par son influence vis à vis des sels.

Nous montrons enfin, que les sérums des serpents peuvent, par leurs propriétés antidiastasiques, s'opposer à la mise en liberté des poisons cytolytiques, engendrés par les venins, et nous établissons que cette action neutralisante est nettement spécifique.

(Travail du laboratoire de Physiologie de l'Institut Pasteur)

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOT (J. F.) et LEIGH RICHARDS (E.). — The lethal effect of pure distilled water on the vinegar eel (*Anquillula aceti*) *Biological Bull.*, t. XXI, pp. 122-126, 1911.
- ABDERHALDEN (E.) et LE COUNT. — Die Beziehungen zwischen Cholesterin, Lecithin und Cobragift, Tetanusgift, Saponin und Solanin *Zeitschr. f. exp. Path. und Therapie*, t. II, pp. 199-215, 1905.
- ARRHENIUS (Svante). — Hæmolytische Versuche. *Biochem. Zeitschrift*, t. XI, p. 161, 1908.
- ARTHUS (M.). — Le venin de Cobra est un curare *Arch. Intern. de Physiol.*, t. X, pp. 160-191, 1910.
- De la spécificité des sérums antivenimeux ; sérum anticobraïque, et venin d'Hamadryas (*Naja bungarus*) et de Krait (*Bungarus ceruleus*). *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XI, pp. 265-284, 1911-1912.
- Physiologie comparée des intoxications par les venins de serpents. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XI, pp. 285-316, 1911-1912.
- De la spécificité des sérums antivenimeux ; sérum anticobraïque, antithropique et anticrotalique, venin de *Lachesis lanceolatus*, de *Crotalus terrificus* et de *Crotalus adamanteus*. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XI, pp. 317-338, 1911-1912.
- ARTHUS (M.) et BOLESŁAWA STAWSKA. — Recherches expérimentales sur la sérothérapie anticobraïque *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XII, pp. 28-46, 1912.
- ARTHUS (M.). — Intoxications venimeuses et intoxications protéiques. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLIV, p. 561, 1910.
- Envenimation et intoxication protéique. Toxicité des humeurs et des tissus des serpents venimeux. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XII, pp. 162-177, 1912.
- Etude sur les venins des serpents. Envenimation et anaphylaxie. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XII, pp. 271-288, 1912.
- Anaphylaxie et Immunité. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CLIV, p. 79, 1912.
- Venins coagulants et anaphylaxie. Propriétés des venins de serpent. Doses anaphylactisantes. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XII, pp. 369-394, 1912.
- Recherches expérimentales sur les phénomènes vaso-moteurs produits par quelques venins. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XIII, pp. 329-352, 1913.

- Recherches expérimentales sur les phénomènes cardio-modérateurs produits par quelques venins. *Arch. Intern. de Physiol.*, t. XIII, pp. 464-478, 1913.
- BANG (Ivar). — Biochemie der zellipoide. *Ergebnisse der Physiologie*, pp. 131-187, 1907 et pp. 463-523, 1909.
- Kobragift und Hämolyse. *Biochem. Zeitschr.*, t. XI, pp. 521-537, 1908.
- Zur Frage der Kobralecithid. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung, u. exper. Therapie*, t. VIII, p. 202, 1910.
- BANG (Ivar) et OVERTON. — Studien über die Wirkungen des Kobragiftes. *Bioch. Zeitschr.*, t. XXXI, pp. 243-293, 1911.
- Studien über die Wirkungen des Grotalusgiftes. *Bioch. Zeitschr.*, t. XXXIV, pp. 428-462, 1911.
- BLYTH (A. W.). — Poison of the Cobra capello. *Analyst*, Londres, 1877, t. I, p. 204.
- BONAPARTE (Lucien). — *Gazeta toscana delle scienze medico-fisiche*. p. 169, 1843.
- BOTAZZI. — *Arch. italiennes de Biologie*, t. XXVIII, p. 61, 1897.
- BRAZIL (Vital). — Contribution à l'étude des intoxications d'origine ophidienne. 1 vol. Maloinc, 1904. Paris.
- La défense contre l'ophidisme. 4 vol., 181 p., Pocai et Weiss, Sao Paulo, 1911.
- BREAZEL. — *Botanical Gazette*, pp. 54-63, 1906.
- BRUNTON et FRAYEZ. — On the nature and physiological action of the poison of *Naja tripudians* and other Indian venomous snakes. *Proc. Roy. Soc.*, p. 68, 1874.
- BULLOT. — *University of California Publications*, pp. 199-207, 1904.
- CALMETTE (A.). — Etude expérimentale sur le venin de *Naja tripudians*. *Ann. Inst. Pasteur*, t. VI, pp. 160-183, 1892.
- L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. *C. R. Soc. Biol.* 10^e sér., t. I, p. 120, 1894.
- De la toxicité du sang de Cobra capel, *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. I, p. 11, 1894.
- Propriétés du sérum des animaux immunisés contre le venin des serpents, et thérapeutique de l'envenimation. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXVIII, p. 720, 1894.
- Contribution à l'étude du venin des serpents. *Ann. Inst. Pasteur*, t. VIII, pp. 275-291, 1894.
- Contribution à l'étude des venins. *Ann. Inst. Pasteur*, t. IX, pp. 225-251, 1895.
- Le venin des serpents, physiologie de l'envenimation, traitement des morsures venimeuses par le sérum des animaux vaccinés. Paris, *Soc. d'Ed. sc.*, 72 p., 1896.
- Sur le venin des serpents, et sur l'emploi du sérum antivenimeux dans la thérapeutique des morsures venimeuses chez l'homme et chez les animaux. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XI, p. 214, 1897.

- Sur le mécanisme de l'immunisation contre le venin. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XII, pp. 343-347, 1898 et *Presse Médicale*, 1898, t. I, p. 191.
- Sur l'action hémolytique du venin de Cobra. *C. R. Acad. Sc.* t. CXXXIV, p. 1446, 1902.
- Les sérums antivenimeux polyvalents, mesure de leur activité. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXVIII, p. 1079, 1904.
- Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse. 4 vol. 396 p. Paris, Masson 1907.
- CALMETTE (A.) et MASSOL (L.). — Relations entre le venin de cobra et son antitoxine. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXI, pp. 929-945, 1907.
- DASTRE (A.). — Solubilité relative des ferments solubles dans l'alcool. *C. R. Soc. de Biol.*, t. XLVII, p. 414, 1895.
- Solubilité et activité des ferments solubles dans les liqueurs alcooliques. *C. R. Soc. de Biol.*, t. XLVII, p. 798, 1895.
- DELEZENNE (C.). — Sur l'existence d'une kinase dans le venin des serpents. *C. R. Soc. Biol.*, t. LIV, p. 1076, 1902 et *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXV, p. 328, 1902.
- Propriétés protéolytiques et coagulantes des venins. *Lect. Acad. Méd.* 6 décembre 1910, résumée in *Presse médicale*, 7 décembre 1910.
- DELEZENNE et FOURNEAU (E.). — Etude du lécithide hémolysant, produit par l'action du venin de Cobra sur le jaune d'œuf. Communication. *Bull. Soc. Chim.*, 4^e s., t. XV et XVI, p. 354, avril 1914.
- Constitution du phosphatide hémolysant (lysocithine) provenant de l'action du venin de Cobra sur le vitellus de l'œuf de poule. Mémoire. *Bull. Soc. Chim.*, t. XV et XVI, pp. 421-434, 1914.
- DELEZENNE (C.) et LEDEBT (S.). — Action du venin de Cobra sur le sérum de cheval. Ses rapports avec l'hémolyse. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLII, p. 790, 1911.
- Formation de substances hémolytiques et de substances toxiques aux dépens du vitellus de l'œuf soumis à l'action du venin de Cobra. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLII, p. 81, 1911.
- Les poisons libérés par les venins aux dépens du vitellus de l'œuf. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXI, p. 421, 1911.
- Nouvelle contribution à l'étude des substances hémolytiques dérivées du sérum et du vitellus de l'œuf soumis à l'action des venins. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLV, p. 1101 1912.
- DUNGERN et COCA. — Ueber Hämolyse durch Schlangengift. *Munch. med. Woch.*, t. LIV, pp. 2317-2321, 1907.
- Ueber Hämolyse durch Kombinationen von oelsaure oder olsaurem Natrium und Kobragift. *Munch. med. Woch.*, t. I, pp. 105, 107, 1908.
- Ueber Hämolyse durch Schlangengift. *Bioch. Zeitschrift*, t. XII, p. 407, 1908.
- FAUST (E. S.). — Beiträge zur Kenntniss des Salamdrins und Salamandal-kaloïde. *Arch. f. exp. Path. und Pharmak.*, t. XLI, p. 219, 1898 et t. XLIII, p. 84, 1900.

- Ueber Bufonin und Bufotalin. *Arch. f. exp. Path. und Pharmak.* t. XLVII, pp. 279-310, 1902.
- Die tierischen Gifte. 4 vol. 248 p. Brunswick, Vieweg und Sohn, 1906.
- Ueber das Ophiotoxin aus dem Gifte der ostindischen Bullenschlange. Cobra de Capello (*Naja tripudians*) *Arch. f. exp. Path. und Pharm.*, t. LVI, pp. 236-259, 1907.
- Ueber das Crotalotoxin aus dem Gifte der *Crotalus adamanteus*. *Arch. f. exp. Path. und Pharmak.*, t. LXIV, pp. 245-273, 1910.
- FAYRER. — On the action of the Cobra poison. *Séries de notes dans Edinb. med. Journ.*, t. XIV, 1868-1869, t. XV, 1869-1879, et t. XVI, 1870-1871.
- FLEXNER (Simon) et NOGUCHI. — Snake venom in relation to hemolysis, bacteriolysis and toxicity. *Journ. of exp. med.*, t. VI, pp. 277-301, 1902. *Univ. of Penn. med. Bulletin*, t. XIV, pp. 438-448, 1901-1902.
- The Constitution of snake venom and snake sera. *Journ. of Path. and Bacteriology*, t. X, pp. 111-124, 1905. *Univ. of Penn. Med. Bull.*, t. XVI, pp. 463-474, 1910.
- Upon the production and properties of crotalus venom, *Journ. of Medical research*, t. XI, pp. 363-376, 1904.
- FONTANA. — Traité sur le venin de la vipère, sur les poisons américains, sur le laurier cerise, et sur quelques autres poisons végétaux. Florence 1781.
- Abhandlung über das Viperngift. Berlin, 1787.
- FOURNEAU (E.) et PAGE (H.). — Sur les éthers de la choline. Communication, *Bull. Soc. Chim.*, t. XV et XVI, p. 355, avril 1914.
- FRANCK DANIEL. — The Adjustement of Paramecium to distilled Water and its bearing on the problem of the necessary organic salt content. *Am. Journ. of Physiol.*, t. XXIII, p. 48, 1908-1909.
- FRASER. — The rendering of animals immune against the venom of the Cobra and other serpents, and on the antidotal properties of the blood serum of the immunized animals. *British Med. Journ.*, 1895, t. I, p. 1309.
- The treatment of snake poisoning with antivenene derived from animals protected against serpents' venom. *British Med. Journ.*, 1896, t. I, p. 957.
- Address on immunization against serpents' venom and the treatment of snakes bites with antivenene. *British Med. Journ.*, 1896, t. II, p. 910.
- FREDERICQ (L.). — *Bull. Ac. Roy. de Belgique*, p. 78, 1878 et p. 209, 1882.
- GAUTIER (A.). — *Bull. Acad. Méd.*, p. 947, 1881.
- GARREY (Walter). — Pression osmotique de l'eau de mer et du sang des animaux marins. *Biological Bull.*, p. 237, 1905.
- GENGOU. — Etude de l'action empêchante du citrate de soude sur l'hémolyse par le venin de Cobra. *C. R. Soc. Biol.*, t. XII, 1907.
- HÉDON. — Sur l'action globulicide des glycosides et les conditions de milieu qui la favorisent ou l'empêchent. *C. R. Soc. Biol.*, p. 774, août 1900.
- Sur l'hémolyse par les glycosides globulicides et les conditions de milieu qui la favorisent ou l'empêchent. *Arch. intern. Pharmacodynamie et Thérapie*, t. VIII, pp. 380-407, 1901 et t. IX, p. 229, 1901.

- Toxicité des glycosides hémolytiques pour les poissons et actions antitoxiques. *C. R. Soc. Biol.*, p. 391, 1901.
- KANTHACK. — The nature of Cobra poison. *Journ. of Physiol.*, t. XII, 1902.
- KYES (P). — Ueber die Wirkungsweise des Cobragiftes. *Berl. klin. Woch.*, t. XXXIX, pp. 886-918, 1902.
- Ueber die Isolierung von Schlangengift-Lecithiden. *Berl. klin. Woch.*, t. XL, pp. 956-959 et 982-984, 1903.
- Cobragift und Antitoxin. *Berl. klin. Woch.*, t. XLI, pp. 494-497, 1904.
- Lecithin und Schlangengift. *Zeitsch. f. physiol. Chem.*, t. XLI, pp. 273-277, 1904.
- Bemerkungen über die Lecithinbildung. *Biochem. Zeitschr.*, t. VIII, p. 42, 1908.
- Venom Hemolysis. *Journal of Infectious diseases*, t. VII, pp. 181-284, 1910.
- KYES et SACHS (H). — Zur Kenntniss der Cobragift activirenden Substanzen. *Berl. klin. Woch.*, t. XL, pp. 21-23, 57, 82, 1903.
- LACERDA. — Leçons sur les venins des serpents du Brésil et sur les méthodes de traitement des morsures venimeuses par le permanganate de potasse. Rio de Janeiro, 1884.
- LAMB. — Snake venoms, their physiological action and antidote. *Glasgow medic. Journ.*, t. LIX, pp. 81-98, 1903.
- On the Serum therapeutics of cases of snake bite. *Lancet*, 1904, t. II, pp. 1273-1277
- On the Action of the Venoms of the Cobra (*Naja tripudians*) and of the Daboia (*Daboia russellii*) on the red blood corpuscles and on the blood plasma. *Sci. Mem. off. Med. Sanit. Dept. India*, n. s., n° 4, p. 45, 1903.
- Specificity of antivenomous sera. *Sci. Mem. Off. Med. Sanit. Dept. India*, n. s., n° 5, p. 32, 1903; n° 10, p. 25, 1904.
- Specificity of antivenomous sera with special reference to a serum prepared with the venom of *Daboia russellii*. *Sci. Mem. Off. Med. Sanit. Dept. India*, n. s., n° 16, p. 18, 1905.
- LAUNOY (L.). — Sur l'action protéolytique des venins. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXXV, p. 401, 1902.
- Contribution à l'étude des phénomènes nucléaires de la sécrétion (cellules à venin, cellules à enzymes). *Thèse doct. ès sciences*. Paris, 226 p., n° 1138, 1903.
- LIVINGSTON. — Further studies on the properties of improductive soil. *Bull. n° 36 Bureau of Soils*. Washington, 1907,
- LOCKE. — On a supposed Action of Distilled Water as such on certain animal organisms. *Journ. of Physiol.*, t. XVIII, pp. 319-331, 1895.
- LÖB. — La dynamique des phénomènes de la vie. Edition française. Alcan, Paris, 1908.
- LUDECKE. — Zur Kenntnis der Glycerinphosphorsaure und des Lecithins. *Inaug. Diss.*, Munich, 1905.
- LYON. — A biological examination of distilled Water. *Biological Bull.*, p. 198, mars 1904.
- MANWARING (Wilfred H.). — Ueber die Lecithinase des Cobragiftes. *Zeitsch. f. Immunitätsforschung*, t. VI, pp. 513-561, 1910.

- Concerning Cobra-Lecithid. *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, pp. 277-279, sept. 1910.
- MARTIN (C.-J.). — On the physiological action of the venom of the Australian black snake (*Pseudechis porphyriacus*) Roy. *Soc. N. S. Wales Journ. and Proc.*, t. XXIX, pp. 146-277, 1895.
- Concerning the curative power of antivenomous serum on animal inoculated with australian snakes venom. *Intercolonial med. Journ.*, t. II, p. 527, 1898.
- The curative value of Calmette's serum in the treatment of inoculation with the poisons of Australian Snakes. *British med. Journ.*, 1898, t. II, p. 1805; *Intercolonial med. Journ. of Australasia*, t. III, p. 197, 1898.
- MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur la teneur des tissus en lipoides. *Journ. de Physiol. et de Pathol. gén.*, t. XVI, pp. 510-533, 534-548, 773-748 et 984-998, 1913.
- Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. *Journ. de Physiol. et Pathol. gén.*, t. XVI, pp. 1-46, 23-38, 1914.
- MESTREZAT (W.). — Le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique. 1 vol. 681 p. Paris, A. Maloine, 1912.
- MINZ (A.). — Ueber Toxolecithide. *Bioch. Zeitschrift*, t. IX, p. 357, 1908.
- MITCHELL (S. Weir). — The venom of serpents. *Med. Times and Gaz. London*, t. I, p. 137, 1869.
- Remarks upon some recent investigations of the venom of serpents. *Lancet*, 1883, t. II, p. 94.
- MITCHELL (Weir) et REICHERT. — Physiology and Toxicology of the venom of the rattlesnake. *Smithonian contr. to knowledges*, Washington, 1861.
- MITCHELL (Weir) et STEWART. — A contribution to the study of the action of the venom of the *Crotalus adamanteus*, upon the blood. *Trans. college of physicians*, Philadelphie 3^d XIX, p. 105, 1897.
- MOORE (Ange). — Further Evidence of the poisonous Effects of the pure NaCl solution. *American Journ. of physiology*, t. IV, p. 386, 1900.
- MORGENROTH. — Ueber die Wiedergewinnung von Toxin aus seiner Antitoxin-verbinding. *Berl. klin. Woch.*, t. XLIII, p. 1550, 1905.
- MORGENROTH et CARPI. — Ueber Toxolecithide. *Bioch. Zeitsch.*, t. IV, pp. 248-267, 1908.
- MYERS (W.). — The neutralisation of the hæmolytic poison of Cobra venom (Cobralysin) by antivenomous serum. *British Med. Journ.*, 1900, t. I, p. 348.
- The standardization of antivenomous serum. *Lancet*, 1900, t. I, pp. 1433-1434.
- On the interaction of toxin and antitoxin. *Journ. of Path. and Bacteriology*, t. VI, pp. 415-434, 1899-1900.
- NAEGELI. — Ueber oligodynamische Erscheinungen um lebenden Zellen. *Nouveaux mémoires de la Société helvétique d'histoire naturelle*, t. XXIII, 1894.
- NOC. — Sur quelques propriétés physiologiques des différents venins de serpents. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVIII, pp. 387-406, 1904.

- Sur quelques propriétés bactériolytiques et cytasiques du venin de Cobra. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XIX, pp. 209-223, 1903.
- NOGUCHI (Hideyo). — The effects of venom upon the blood corpuscles of cold-blooded animals. *Univ. of Penn. Medical Bulletin*, t. XVI, p. 182, 1903.
- The action of snake venom upon cold-blooded animal. *Carnegie Institution of Washington Publication*, n° 12, 46 p., 8°, 1904.
- A study of the protective action of snake venom upon blood corpuscles. *Journ. of experim. Medecine*, t. VII, pp. 191-222, 1905.
- On certain thermostabile venom activators *Journ. of experim. Med.*, t. VIII, pp. 87-102, 1906.
- Therapeutic experiments with anticrotals et antimocassin sera. *Journ. of experim. Medecine*, t. VIII, pp. 614-624, 1906.
- On extracellular and intracellular venom activators of the blood, with especial reference to lecithin and fatty acids and their compounds. *Journ. of experim. Medecine*, t. IX, pp. 436-454, 1907.
- Ueber gewisse chemische Komplementsubstanzen. *Biochem. Zeitschr.*, t. VI, pp. 327-359, 1907.
- Snake venoms and investigation of venomous snakes with special reference to the phenomena of their venoms. 4 vol., 313 p., publié par *The Carnegie Institution*. Washington, 1909.
- NOLF. — Article « Hémolyse », *Dictionnaire de Physiologie*, de Charles Richet.
- OSTWALD. — Versuche über die Giftigkeit des Seewassers für süßwassertiere (*Gammarus pulex* de Geer). *Pflügers Arch.*, t. CVI, p. 568, 1903.
- PHISALIX (C.). — Venins et animaux venimeux dans la série animale. *Rev. scientifique*, 4^e s., t. VIII, pp. 97-104, 193-201, 329-335.
- Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXIII, p. 1305, 1896; *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. III, p. 1128, 1896.
- Propriétés immunisantes du venin de Salamandre du Japon contre le venin de Vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. IV, p. 822, 1897.
- La cholestérine et les sels biliaires, vaccins chimiques du venin de vipère. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXV, p. 4053, 1897.
- La propriété préventive du sérum antivenimeux résulte d'une réaction de l'organisme, c'est donc en réalité une propriété vaccinante. *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. V, p. 253, 1898.
- PHISALIX (C.) et BERTRAND (G.). — Toxicité du sang de la vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 9^e s., t. V, p. 997, 1893. *C. R. Acad. Sc.* t. CXVII, p. 1099, 1893.
- Vaccination et accoutumance du cobaye contre le venin de vipère. *Att. d. XI Cong. med. internaz. Rom* II. *Patol. gen. ed. anat. patol.*, pp. 274-277, 1894.
- Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXVIII, p. 356, 1894; *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. I, p. 1111, 1894; *Semaine médicale*, 1894.
- Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXI, p. 745, 1895; *C. R. Soc. Biol.*, 10^e s., t. II, p. 751, 1895.

- Sur les principes actifs du venin de crapaud commun. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXV, p. 46, 1902.
- QUINTON. — Communication osmotique chez l'invertébré marin normal entre le milieu intérieur de l'animal et le milieu extérieur. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXI, p. 905, 1900.
- RANSOM. — Saponin and sein Gegengift. *Deutsche Medic. Wochenschrift*, 1901.
- RINGER. — *Journal of Physiology*, t. XXII, 1897.
- RINGER et PHEAR. — The influence of saline media on the Tadpole. *the Journ. of Physiol.*, t. XVII, pp. 423-432, 1894-1895.
- ROAF (Herbert) et WHITLEY (Edward). — The action of acids and alkalies and of acid, alkaline and neutral salt upon the tadpole of *Rana temporaria*. *Biochemical Journ.*, t. I, pp. 88-110, 1906.
- ROGERS (L.). — On the physiological action and antidotes of colubrine and viperine snake venoms. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, t. LXXII, pp. 419-423, 1903; *Lancet*, 1904, t. I, pp. 349-355.
- Physiological action and antidotes of colubrine and viperine snake venoms. Londres, 68 p., 4^e, 1904.
- SOLLMAN (T.). — The effects of a Serie of Poisons on adult and embryonic Funduli. *Americ. Journ. of Physiol.*, t. XVI p. 1, 1906.
- STEPHENS. — On the hæmolytic action of snake toxins and toxic sera. *Journ. of Pathol. and Bacteriol.*, t. VI, p. 273, 1899-1900.
- STEPHENS et MYERS (W.). — Test-tube reactions between cobra poison and its antitoxin. *British medical Journ.*, 1898, t. I, p. 620.
- The action of cobra poison of the blood; a contribution to the study of passive immunity. *Journ. of Pathol and Bacteriol.*, t. V, p. 279, 1898.
- TIDSWELL (F.). — Preliminary note on the serumtherapy of snake bite. *Australian Medical Gazette*, t. XXI, pp. 177-181, 190.
- VULPIAN. — Note sur l'effet de diverses substances toxiques sur les embryons de grenouilles et de tritons. *C. R. Soc. de Biol.*, t. X, p. 71, 1858.
- Remarques sur les effets toxiques et physiologiques du cyclamen et de la cyclamine. *C. R. Soc. de Biol.*, t. XI, p. 195, 1859.
- WADDEL (L. A.). — Are venomous snakes autotoxic? An inquiry into the effect of serpents venom upon the serpents themselves. *Sci. Mem. Med Off. of the Army in India*, Publication IV, pp. 47-72, 1889.
- WEHRMANN. — Sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XI, p. 810, 1897.
- Contribution à l'étude du venin des serpents. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XII, pp. 510-516, 1898.
- WINDAUS (A.). — Über die Entgiftung der Saponin durch Cholesterin. *Ber. Deutsch Chem. Ges.*, t. XLII pp. 238, 246, 1909.
- Über die quantitative Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterines. *ther. Zeits. f. physiol. Chemie*, t. LXV pp. 110, 117, 1910.
- WOLFENDEN (R. N.). — On the nature and action of the venoms of poisonous snakes. *Journ. of Physiol.*, t. VII, pp. 327-364, 1886.

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Botanique — LA TOXICITÉ DES CHAMPIGNONS VÉNÉNEUX.

Géologie. — LES DELTAS.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 3 juin 1914.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Paris, le 3 juin 1914

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris

L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	1

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Sur les conditions de milieu qui permettent la vie des animaux aquatiques	3
---	---

CHAPITRE II

Action de l'eau distillée, de l'eau redistillée et de diverses solutions salines sur les vertébrés aquatiques	43
I. — Action de l'eau distillée ordinaire et de l'eau redistillée	45
II. — Action de quelques solutions salines	49

CHAPITRE III

Toxicité de divers venins sur les vertébrés aquatiques maintenus en milieu d'eau redistillée	22
I. — Venins de Cobra	26
A. <i>Action du venin de Cobra sur les poissons</i>	26
B. <i>Action du venin de Cobra sur les têtards</i>	28
C. <i>Hypersensibilité des têtards au venin de Cobra</i>	30
D. <i>Action du chauffage en milieu neutre et en milieu acide sur le venin de Cobra</i>	32
II. — Venins des Vipéridés	33
A. <i>Venin de Daboia</i>	34
B. <i>Venin de Trimeresurus</i>	37
C. <i>Venins de Crotale, de Bothrops, de Vipère et de Céraste</i>	38
; Ledebt	40

CHAPITRE IV

Action de différents sels sur la toxicité des venins vis-à-vis des animaux aquatiques. Pouvoir antagoniste des sels de calcium	40
--	----

CHAPITRE V

Neutralisation des venins par les sérums antivenimeux. Spécificité d'action des sérums antivenimeux ajoutés aux venins dans le milieu extérieur	52
---	----

CHAPITRE VI

Action de la cholestérine sur l'intoxication des animaux aquatiques par les venins	61
--	----

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE VII

Les poisons engendrés par les venins. Introduction à l'étude de leur action sur les vertébrés aquatiques	69
I. — Considérations générales	69
II. — L'hémolyse provoquée par les venins. Action catalytique des venins sur la lécithine	73
A. <i>Aperçu historique</i>	73
B. <i>Action des venins sur le sérum de cheval. Les phases successives de cette action</i>	77
C. <i>Propriétés hémolytiques du vitellus d'œuf, soumis à l'action des venins. Action catalytique des venins sur la lécithine</i>	84
III. — La lysocithine, sa nature et ses propriétés	86
A. <i>Préparation, constitution et propriétés chimiques essentielles de la lysocithine</i>	86
B. <i>Propriétés biologiques de la lysocithine</i>	89
C. <i>Dédoublement de la lysocithine par les venins. Rôle des sels</i>	94
IV. — Aperçu général sur les poisons libérés par les venins	95

CHAPITRE VIII

Action des poisons engendrés par les venins, aux dépens du sérum et du vitellus de l'œuf sur les vertébrés aquatiques	103
I. — Toxicité du sérum sanguin soumis à l'action des venins	103
II. — Toxicité du vitellus de l'œuf soumis à l'action des venins	113

	Pages
CHAPITRE IX	
Action de la lysocithine isolée sur les vertébrés aquatiques	419
I. — Toxicité de la lysocithine. Antagonisme de la cholestérine	419
II. — Action comparée de la lysocithine et des glycosides hémolytiques	420

CHAPITRE X	
Sur l'action antidiastasique des sérums de serpents	430
BIBLIOGRAPHIE	437

